



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. И. МЕЧНИКОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И. И. Мечникова Минздрава России)



**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
5-й МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ
ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ
И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ»,
ПОСВЯЩЕННОЙ
155-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
ПРОФЕССОРА Е. С. ЛОНДОНА**

5–6 декабря 2024 г.

Часть 1



**Санкт-Петербург
2024**

**СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ
СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ 5-й МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава
России)

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
5-й МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ ХИМИКО-
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ
МЕДИЦИНЕ»,
ПОСВЯЩЕННОЙ 155-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
ПРОФЕССОРА Е. С. ЛОНДОНА

Санкт-Петербург
5–6 декабря 2024 года

Под редакцией Л. Б. Гайковой, Н. В. Бакулиной

Часть 1

Санкт-Петербург
2024

УДК 54+57+61

ББК 24.28.5

C56

Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: сборник научных трудов 5-й Международной конференции, посвященной 155-летию со дня рождения профессора Е.С. Лондона. 5–6 декабря 2024 года / под ред. Л.Б. Гайковой, Н.В. Бакулиной. Ч. 1. — СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, 2024. — 236 с.

ISBN 978-5-89588-617-5

Ч. 1 978-5-89588-618-2

Редакционная коллегия: д.м.н., заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, биологической и общей химии им. В.В. Соколовского доцент *Гайковая Л.Б.*; д.м.н., профессор *Глушков С.И.*; к.п.н., доцент *Иванова И.С.*; к.х.н., доцент *Попов А.С.*; к.х.н., доцент *Чушно А.С.*

Сборник научных трудов предназначен для сотрудников образовательных организаций высшего и дополнительного профессионального медицинского образования, врачей клинической лабораторной диагностики и других специальностей, сотрудников научно-исследовательских институтов и лабораторий, обучающихся медицинских вузов по программам специалитета, магистратуры, ординатуры, аспирантуры, сотрудников органов и учреждений, подведомственных Минздраву России и Роспотребнадзору, должностных лиц органов исполнительной власти, курирующих вопросы укрепления общественного здоровья и оказания медицинской помощи населению и других заинтересованных лиц. Материалы публикуются в авторской редакции.

УДК 54+57+61

ББК 24.28.5

ISBN 978-5-89588-617-5

Ч. 1 978-5-89588-618-2

Проблемное поле конференции:

- Актуальные вопросы физической, коллоидной, аналитической, органической и неорганической химии природных и биологически активных соединений, а также применение химии в медицинской практике.
- Актуальные вопросы биологической и медицинской химии.
- Инновационные технологии в клинической лабораторной диагностике.
- Современные достижения в доклинических и клинических исследованиях.
- Проблемы теории и практики химико-биологического образования в медицинском вузе.

© ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Козлов А.В., Стюф И.Ю., Карпич С.А., Зенина М.Н., Качанова Е.В., Гайковая Л.Б.	
ЕФИМ СЕМЕНОВИЧ ЛОНДОН — ОСНОВАТЕЛЬ СИСТЕМЫ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБУЧЕНИЯ ВРАЧЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ.....	11
Гайковая Л.Б.	
СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА.....	22
АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ХИМИИ ПРИРОДНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, А ТАКЖЕ ПРИМЕНЕНИЕ ХИМИИ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ.....	32
Балкунова М.Н., Лисовский Д.С.	
ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ НАНОЧАСТИЦ СОЕВОГО ЛЕЦИТИНА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ.....	32
Беляев А.П.	
ПОЛУЧЕНИЕ РОМБИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ПАРАЦЕТАМОЛА ИЗ ПАРОВОЙ ФАЗЫ	38
Васильева Н.Г., Козлова-Козыревская А.Л., Мицкевич Е.Н., Огейко В.Г.	
ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ АНТИБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ.....	44
Гришин В.В., Гришин В.В.	
ПРИМЕНЕНИЕ АДАПТОГЕНОВ У ДЕВУШЕК, СПЕЦИАЛИЗИРУЮЩИХСЯ В БЕГЕ НА СРЕДНИЕ ДИСТАНЦИИ, С УЧЕТОМ ФАЗ ОВАРИАЛЬНО- МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА	49

Дадали В.А, Соколова Е.А., Степанова Н.П., Антонова Ж.В. О ТЕРМОЛАБИЛЬНОСТИ КАРОТИНОИДОВ — КОМПОНЕНТОВ ПЧЕЛИНОЙ ПЕРГИ.....	59
Домнин М.В., Асланлы А.Г., Сенько О.В., Степанов Н.А., Ефременко Е.Н. ФЕРМЕНТЫ, ПРОЯВЛЯЮЩИЕ ЛАКТОНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ, КАК ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ АГЕНТЫ.....	65
Дударев В.Г., Васендин М.И., Тихомирова О.М. СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ КОНЪЮГИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СОСТОЯЩИХ ИЗ САЛИЦИЛАНИЛИДОВ И ФУРАЦИЛИНА.....	72
Ланцова Е.А. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ОТЖИГА ТЕМПЛАТОВ НА СОРБЦИОННЫЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГИБРИДНОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ СИЛАНОВЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ И ОКТЕНИДИНА ДИГИДРОХЛОРИДА.....	76
Лисовский Д.С., Дмитриева И.Б. ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ И ИОННОЙ СИЛЫ НА СРЕДНИЙ РАЗМЕР ЛИПОСОМ ИЗ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА.....	81
Мишин П.И., Михеев А.В., Трушина Д.Б., Букреева Т.В., Балабушевич Н.Г. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУБМИКРОННЫХ И МИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ВАТЕРИТА ДЛЯ ВКЛЮЧЕНИЯ КАТАЛАЗЫ И ХИМОТРИПСИНА	89
Перцева В.А., Ланцова Е.А. ИЗУЧЕНИЕ рН-ЗАВИСИМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ОКТЕНИДИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ НОВОГО ВИДА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ.....	95

Подчуфарова В.А., Зиновьева А.Д., Левицкая О.В., Борисова Т.Н. НАПРАВЛЕННЫЙ СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ДИПИРРОЛО[1,2- <i>a</i> : 2',1'- <i>c</i>][1,4]БЕНЗОДИАЗЕПИНА С УЛУЧШЕННЫМИ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ.....	102
Попов А.С., Иванова И.С. ОТНЕСЕНИЕ ФОТОЭЛЕКТРОННЫХ СПЕКТРОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ГИДРАЗИНОВ	112
Хикматова Ш.Ш., Расулова Ю.З. ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА КРАСКИ ШЕЛКОВЫХ ТКАНЕЙ ВОДОРАСТВОРИМЫМИ КРАСИТЕЛЯМИ В ПРИСУТСТВИИ ХИТОЗАНА.....	117
Шалгуев В.И., Обухова И.А., Соболева Н.Г. ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ТРЕХ БЕЛКОВ: БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, ЗЕЛЕННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА, РИБОНУКЛЕАЗЫ А К ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСА МЕТОДОМ КД-СПЕКТРОСКОПИИ.....	120
Шерстнев В.В., Чухно А.С., Аникина Е.И. БИОПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ, СИНТЕЗИРОВАННЫЕ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА: СТРОЕНИЕ, СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ.....	125
Шерстнев В.В., Чухно А.С., Востряков Е.В. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОПОЛИМЕРНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА.....	133

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ
И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ 140**

Агарков А.А., Попова Т. Н., Мелихова Е.В., Мануйлова С.Е.,

Иванникова Е.Е.

**ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ТИМОЛА НА АКТИВНОСТЬ
НАДФ-ЗАВИСИМОЙ ИЗОЦИТРАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ПОЧКАХ КРЫС
С ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ..... 140**

Баюнова Л.В., Захарова И.О., Третьякова А.Д., Шпаков А.О.,
Аврова Н.Ф.

**ВЛИЯНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМОГО ИНСУЛИНА
НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ АУТОФАГИИ И БИОГЕНЕЗА
МИТОХОНДРИЙ В ЛОБНОЙ КОРЕ ПРИ ИШЕМИИ
И РЕПЕРФУЗИИ МОЗГА КРЫС 145**

Белоус Е.М.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ ЭНТЕРОЦИТОВ 152

Деркач К.В., Басова Н.Е., Сорокоумов В.Н., Федорчук И.В.,
Шпаков А.О.

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ТИРОЗИНФОСФАТАЗЫ 1В НА
ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ТИРЕОИДНОЙ И ГОНАДНОЙ
СИСТЕМ У САМЦОВ КРЫС С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ
СИНДРОМОМ..... 155**

Добаева Н.М., Бутенко Е.В.,

Золотарева Е.И., Бакурова Е.М.

**КАТАБОЛИЗМ АДЕНОЗИНА — ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР
ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ 161**

Зорина И.И., Деркач К.В., Шпаков А.О.	
СОВМЕСТНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНГИБИТОРА ФОСФАТАЗЫ РТР1В И ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМОГО ИНСУЛИНА ПРИВОДИТ К ГИПЕРАКТИВАЦИИ ИНСУЛИНОВОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ.....	168
Коваль А.Н., Литвинчук А.В., Логвинович О.С.	
Сергеенко С.М., Гельдимамедов Ч.А., Белоус Е.М.	
Громыко М.В., Шафорост А.С.	
ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ G-КВАДРУПЛЕКСЫ: ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ В ЛЕЧЕНИИ РАКА.....	175
Костюченко Н.С., Хрусталёва Т.А.	
ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ ПЕПТИДНЫХ БЛОКАТОРОВ САЙТА ПРОТЕОЛИЗА БЕЛКА-ПРЕДШЕСТВЕННИКА β-АМИЛОИДНЫХ ПЕПТИДОВ β-СЕКРЕТАЗОЙ.....	181
Магомедова М.А., Газимагомедова М.М.	
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МЕТИОНИН-СИНТАЗЫ-РЕДУКТАЗЫ ПРИ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ.....	190
Падорина Е.В., Яковлев Ю.М., Вольхина И.В.	
ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ПРИ РАКЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	196
Петропилюк М.А., Лозовая А.А., Чайка Н.А.	
ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН И АЛЬБУМИНОВ.....	202

Пронина Ю.М., Вольхина И.В.	
ЗНАЧЕНИЕ НЕЙРОН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЕНОЛАЗЫ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ.....	209
Рейпольская Т.Ю.	
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ IN VIVO И IN VITRO ТОЧЕК ПРИЛОЖЕНИЯ, СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ И ПРИКЛАДНЫХ АСПЕКТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПЕПТИДА ХУМАНИНА И ЕГО СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ.....	214
Тюнина Н.В., Гайковая Л.Б., Павлова Р.Н., Шеламова Д.А., Бурбелло А.Т., Антонова Ж.В., Бейшебаева Ч.Р.	
РЕДУКТИВНЫЙ СТРЕСС ПРИ ПСОРИАЗЕ И ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ.....	223
Федосова Ю.Е., Крыльский Е.Д., Разуваев Г.А., Скакун С.Д., Дронова Е.А., Мялик А.Н.	
АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ 2,2,4-ТРИМЕТИЛ-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-8-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ.....	230

Уважаемые коллеги!

Перед вами сборник научных трудов 5-й Международной научно-практической конференции «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине», посвященной 155-летию со дня рождения профессора Лондона Ефима Семеновича. Мы сохраняем традицию посвящать нашу конференцию юбилейным датам известных ученых — заведующих кафедрами.

Ефим Семенович Лондон — выдающийся ученый, разносторонне одаренный человек: патофизиолог, биохимик и радиобиолог с широким научным кругозором. Он родился 9 января 1869 г. в городе Кальварии Сувалкской губернии. Е.С. Лондон окончил с отличием в 1894 г. медицинский факультет Варшавского университета. Уже в студенческие годы он выделялся из среды сокурсников своей энергией и стремлением к научным исследованиям. За научные достижения он был приглашен С.М. Лукьяновым на работу в отдел общей патологии Института экспериментальной медицины, где работал сначала в качестве практиканта, а затем — исполняющим обязанности помощника заведующего этим отделом.

В 1926 г. Е.С. Лондон организовал и стал первым заведующим первой кафедры биологической химии в системе последиplomного образования в Ленинградском государственном институте для усовершенствования врачей (ЛенГИДУВе), которая в дальнейшем стала кафедрой клинической лабораторной диагностики.

Особенностью конференции, сборника научных трудов и нашей кафедры клинической лабораторной диагностики, биологической и общей химии им. В.В. Соколовского является

мультидисциплинарность. С одной стороны, дисциплины разные (общая химия, биологическая химия, клиническая лабораторная диагностика), но с другой — они представляют преемственный процесс в обучении студентов, ординаторов, аспирантов и слушателей ДПО основам аналитики, обменным процессам и методам их распознавания. В соответствии с этим сборник научных трудов состоит из разделов, посвященных актуальным вопросам биологической и медицинской химии, современным достижениям в доклинических исследованиях, инновационным технологиям в клинической лабораторной диагностике, а также проблемам и новым методам преподавания в медицинском вузе.

Обсуждаемые на конференции темы, а также статьи, представленные в сборнике, будут полезны, как студентам, обучающимся в медицинских вузах, клиническим ординаторам, так и аспирантам, молодым ученым, научным сотрудникам, преподавателям химии и биохимии, а также специалистам в различных областях знаний.

Желаю всем интересно провести время при ознакомлении с материалами сборника научных трудов!

С уважением,
д.м.н., доцент,
заведующая кафедрой клинической лабораторной
диагностики, биологической и общей химии
им. В.В. Соколовского
Гайковая Лариса Борисовна

УДК 61.616-092.18

**Козлов А.В., Стюф И.Ю., Карпич С.А.,
Зенина М.Н., Качанова Е.В., Гайковая Л.Б.**
*Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербург
Anton.Kozlov@szgmu.ru*

**ЕФИМ СЕМЕНОВИЧ ЛОНДОН — ОСНОВАТЕЛЬ СИСТЕМЫ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБУЧЕНИЯ ВРАЧЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ
ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ**

В статье представлен жизненный путь, научная и педагогическая деятельность выдающегося ученого, патофизиолога, биохимика, радиобиолога профессора, заведующего кафедрой биохимии в Ленинградском государственном институте для усовершенствования врачей с 1929 по 1938 гг. Ефима Семеновича Лондона

Ключевые слова: *биография, научные достижения, биохимия, последипломное обучение.*

**Kozlov A.V., Styuf I.Yu., Karpich S.A.,
Zenina M.N., Kachanova E.V., Gaikovaya L.B.**
*North-Western State Medical University named after
I.I. Mechnikov
St. Petersburg*

**EFIM SEMENOVICH LONDON — FOUNDER OF THE SYSTEM
OF POSTGRADUATE TRAINING OF DOCTORS IN CLINICAL
LABORATORY DIAGNOSTICS**

The article presents the life path, scientific and pedagogical activities of an outstanding scientist, pathophysiologist, biochemist, radiobiologist, professor, head of the department of biochemistry at the Leningrad State Institute for Advanced Medical Training from 1929 to 1938. Efim Semenovich London

Keywords: *biography, scientific achievements, biochemistry, postgraduate training.*

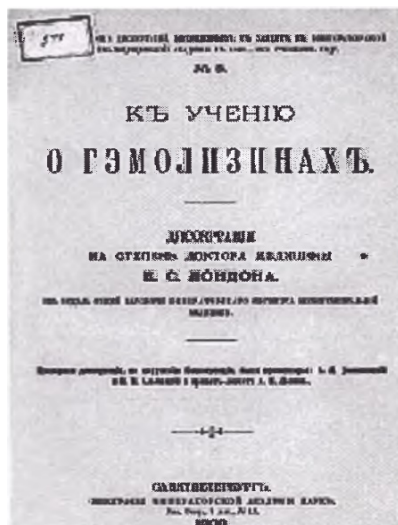
Ефим Семенович Лондон — выдающийся отечественный ученый, разносторонне одаренный человек: патофизиолог, биохимик и радиобиолог. Он обладал широким научным кругозором, что позволило ему осуществить замечательные исследования в наименее разработанных областях естествознания

и медицины на рубеже XIX-XX веков. Ефим Семенович родился 9 января 1869 г. в городе Кальварии Сувалкской губернии. Начальное образование получил в частных училищах и в 1883 г. поступил в 4-й класс Сувалкской гимназии, которую окончил в 1888 г. Е.С. Лондон поступил на медицинский факультет Варшавского университета, который окончил с отличием в 1894 г. Будучи студентом II курса, стал заниматься научными исследованиями, за одну работу был награжден серебряной медалью, другая работа была напечатана в 1893 г. в «Известиях Варшавского университета». За свою последнюю студенческую работу «Судебно-медицинское исследование волос», которую Е.С. Лондон начал, будучи студентом последнего курса, был награжден золотой медалью. Студенческие работы Е.С. Лондона выделили его из среды сокурсников, а большая энергия и влечение к научным исканиям обратили внимание заведующего кафедрой общей патологии Варшавского университета профессора С.М. Лукьянова, который предложил Е.С. Лондону оставить врачебную деятельность, переехать в столицу и работать его помощником в отделе общей патологии ИЭМ. В 1895 г. Е.С. Лондон бы зачислен в качестве практиканта, а в 1896 г. утвержден исполняющим обязанности помощника заведующего этим отделом. В 1926 г. организовал и стал первым заведующим первой кафедрой биологической химии в системе последипломного образования в Ленинградском государственном институте для усовершенствования врачей (ЛенГИДУВе).

Деятельность Е.С. Лондона в Институте экспериментальной медицины

Обнаружение И.И. Мечниковым того, что лейколизины оказывают токсическое действие на активность макрофагов, послужило толчком к изучению клеточных лизинов и их значению в реакциях иммунитета. Развивая эти исследования, Е.С. Лондон выполнил ряд работ по изучению нейролизинов, спермолизинов, цито- и гемолизинов. Он доказал возможность образования антигемолизинов, и описал их специфические реакции с гемолитическими сыворотками. Все это имело важное значение для понимания сложных механизмов защитных реакций клеток и тканей организма на патогенные возбудители.

В 1900 г. Е.С. Лондон в Военно-медицинской академии защитил диссертацию на соискание степени доктора медицины на тему: «К учению о гемолизилах». В ней он суммировал результаты собственных опытов и данные литературы о свойствах гемолизинов, механизме их действия и показал роль селезенки в выработке гемолизинов.



Титульный лист диссертации
Е.С. Лондона

Влияние работ Е.С. Лондона на прогресс мировой и отечественной радиобиологии

Начало научной деятельности Е.С. Лондона совпало с крупнейшими событиями в науке — открытием X-лучей В.К. Рентгеном и открытием радиоактивности А. Беккерелем, Марией и Пьером Кюри. Е.С. Лондон занялся изучением действия лучей радия на растительные и животные объекты. Он доказал, что излучение радия убивает белых мышей на расстоянии, причиной их смерти является поражение органов кроветворения. В 1903 г. Е.С. Лондон впервые в России успешно применил препараты радия для лечения опухолей кожи. Тогда же он проводил опыты на себе, и в результате экспериментов с лучами радия и рентгеновскими лучами получил ожоги и язвы на коже.



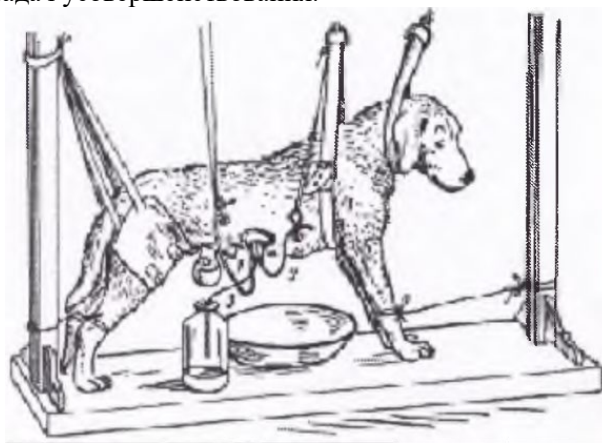
Автордиограмма лягушки

В 1904 г. Е.С. Лондон разработал новый оригинальный метод, позволивший выявлять ткани, наиболее сильно поглощающие излучение радия. Он назвал его методом автордиографии. Суть метода заключалась в следующем: после воздействия излучения радия на лягушку он помещал ее на фотографическую пластинку, на которой возникало изображение контуров тела животного с разной степенью контрастности. Данный метод в настоящее время продолжает использоваться в исследованиях, проводимых с помощью радионуклидов.

Более 10 лет напряженного труда посвятил Е.С. Лондон изучению влияния рентгеновских лучей, а также излучения радия на биологические объекты, заслужив репутацию крупнейшего исследователя и знатока научной литературы в этой новой отрасли знаний. Не случайно Лейпцигское академическое издательство предложило ему написать монографию по радиобиологии. Монография Е.С. Лондона «Das Radium in der Biologie und Medizin» (1911) явилась работой, подытоживающей начальный этап разработки тематики радиобиологии в мировой научной литературе.

Работы Е.С. Лондона в области пищеварения (1905–1914)

Тщательная оценка экспериментальных результатов, полученных И.П. Павловым и его сотрудниками при изучении секреторных механизмов пищеварительных желез, побудили Е.С. Лондона начать разработку физиологических методов изучения биохимических процессов пищеварения в условиях хронического эксперимента на животных в условиях жизнедеятельности, максимально приближенных к естественным. Понимая исключительное значение, которое приобрел метод фистул в классических работах И.П. Павлова и его школы, Е.С. Лондон стремился внести в него необходимые для решения своих задач усовершенствования.



**Изучение всасывания
с помощью двухкамерной канюли**

Первым шагом было создание двухкамерной канюли, использование которой позволило успешно изучать на так называемых полифистульных собаках биохимическую сторону физиологии и патологии пищеварения и всасывания в разных участках кишечника. Эти материалы внесли много нового в знания о химизме пищеварения и всасывания в норме и при патологии. Первая работа Е.С. Лондона по пищеварению была опубликована в «Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie» на немецком языке в 1905 г.

С большой энергией Е.С. Лондон и его сотрудники, используя полифистульный метод, продолжили изучение процессов пищеварения и всасывания продуктов расщепления биополимеров. Накопленные оригинальные данные по всасыванию сахаров и продуктов расщепления белков получили широкое признание и послужили толчком для поисков и формулировки математических законов пищеварения и всасывания. По предложению Лейпцигского издательства Е.С. Лондон в 1913 г. издает на немецком языке монографию «Физиология и патология химологии». В ней он подобно излагает и анализирует результаты проведенных экспериментальных исследований.

Это был период, когда молодая, бурно развивавшаяся биохимия находила свои собственные пути развития, выделяясь из физиологии в самостоятельную научную дисциплину.

Работы Е.С. Лондона в Чумном форте по созданию противостолбнячной сыворотки

Первая мировая война 1914–1918 гг. прервала исследования Е.С. Лондона по обмену веществ. После мобилизации он в течение двух лет работал в бактериологических лабораториях при военных госпиталях около г. Риги. В 1916 г. он был переведен в Чумный форт ИЭМ, располагавшийся около Кронштадта, где занимался разработкой приемов очистки и выделения токсина столбняка. Перед сотрудниками форта была поставлена задача быстро приготовить противостолбнячную сыворотку для нужд армии. Е.С. Лондон и В.М. Аристовский разработали метод получения токсина столбняка. В 1918 г. Чумный форт был расформирован, и Е.С. Лондон вернулся в Институт экспериментальной медицины, где стал работать заведующим отделом общей патологии. Как память об этой войне в течение многих лет на его письменном столе стоял упавший рядом с ним, но не разорвавшийся артиллерийский снаряд.

Создание ангиостомического метода и работы Е.С. Лондона в области ангиохимии (1919–1929)

Е.С. Лондону принадлежит заслуга создания нового физиолого-хирургического метода — ангиостомии. Он разработал способ введения канюль практически во все крупные

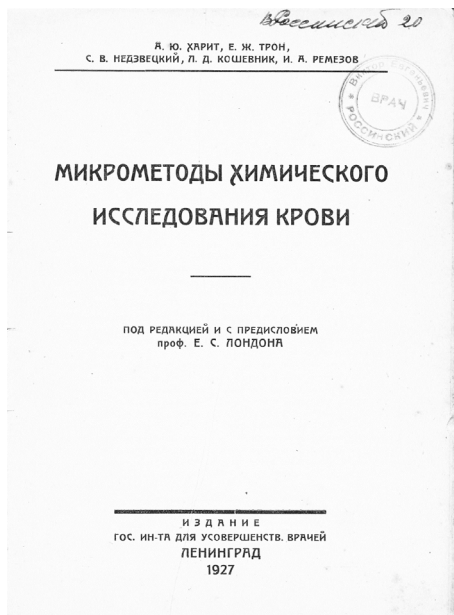
венозные сосуды внутренних органов, что обеспечивало возможность в ходе продолжительного эксперимента получать образцы крови, оттекающей от кишечника, печени, почек, селезенки, надпочечников, поджелудочной железы, яичников и легких.

В 1920 г. описание метода немецком языке было опубликовано в журнале «Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie». Метод позволил по величине артериовенозной разницы отвечать на важный вопрос: извлекает ли изучаемый орган анализируемое вещество из крови или, наоборот, выделяет его в кровь как продукт своей деятельности. Это открыло широкие возможности изучать обменные процессы в различных органах по характеру потребления основных метаболитов: аминокислот, полипептидов, липидов, гликогена, глюкозы, галактозы, молочной, пировиноградной и мочевой кислот, аммиака и ряда ферментов. На ангиостомированных собаках было показано, что участие печени в углеводном обмене организма зависит от ее функционального состояния. Эти исследования, как и многие другие опыты, проведенные на ангиостомированных собаках, явились логическим продолжением многолетних работ, посвященных изучению химизма пищеварения, выполнявшихся Е.С. Лондоном в 1904–1913 г.

В 1926 г. правительство Швейцарии пригласило Е.С. Лондона участвовать в научной экспедиции по изучению физиологии акклиматизации к высокогорным условиям. В связи с этим 4 июня 1926 г. Е.С. Лондон и сотрудники выехали в Германию и Швейцарию. Они взяли с собой 18 ангиостомированных собак и 10 кроликов. Н.П. Кочнева (1940) так писала о результатах этой поездки: «В экспедиции все время ближайшее участие принимал проф. Э. Абдергальден с тремя ассистентами и проф. Леви. Метод ангиостомии настолько заинтересовывает проф. Э. Абдергальдена, что он не пропускает ни одной ангиостомической операции». В исследованиях, проведенных на ангиостомированных животных в горах Швейцарии на высоте 1500 м и около 2500 м над уровнем моря, а также и в условиях равнин (Галле — лаборатория Э. Абдергальдена), были исследованы 15 различных ингредиентов промежуточного обмена веществ. Труды экспедиции были опубликованы в 1927 г.

Роль Е.С. Лондона в становлении системы последипломного обучения

Организация новых вузов и лабораторий в Петрограде после революции наталкивалась на недостаток биохимиков и патофизиологов, и Е.С. Лондон был приглашен работать в ряде высших учебных заведений. Продолжая руководить отделом общей патологии ИЭМ, он организовал кафедру обмена веществ в Ленинградском университете, кафедру патологии физиологии в Институте охраны материнства и младенчества (ныне Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия) и Ветеринарном институте.



В связи с возросшим значением биологической химии для медицины возник вопрос о необходимости организации системы повышения квалификации врачей различных специальностей по физиологии и патологии обмена веществ и их ознакомлением с новыми аналитическими методами клинической биохимии.

В связи с этим в 1926 г. в Ленинградском государственном институте для усовершенствования врачей (ЛенГИДУВе) была

организована первая в системе последиplomного образования кафедра биологической химии. Ее руководителем в течение 13 лет с 1926 по 1939 г. был Ефим Семенович Лондон. В 1928 г. при кафедре была организована лаборатория физической химии и электрохимии. В ней проводилась интенсивная и продуктивная научно-исследовательская работа по изучению липидного обмена и его гормональной регуляции, нарушений липидного обмена при атеросклерозе, структуры витамина D и половых гормонов. Итоги этих исследований были обобщены в монографии «Химия холестерина», изданной Институтом экспериментальной медицины в 1931 г.

Е.С. Лондон и его сотрудники уделяли много внимания внедрению в практику клинико-диагностических лабораторий, появившихся в то время микрометодов анализа крови. Коллектив кафедры в 1927 г. опубликовал одно из первых отечественных руководств в этой области — «Микрометоды химического исследования крови». За 10 лет (1929–1938) под руководством Е.С. Лондона на кафедре биохимии было подготовлено свыше 150 первых специалистов-биохимиков с университетским образованием в СССР.

После смерти Е.С. Лондона с 1939 года и по 1948 год кафедру биохимии возглавляла профессор Юлия Марковна Гефтер (1888–1970). В тяжелых условиях Великой Отечественной войны и блокады Ленинграда кафедра вела занятия с врачами клинико-диагностических лабораторий военных госпиталей. Совместно с кафедрами терапии и хирургии занималась изучением алиментарной дистрофии, авитаминозов, блокадной гипертонии, язвенной болезни и другой патологии военного времени. За этот период было опубликовано 22 статьи в сборниках института.

В 1948–1951 годы кафедрой руководил профессор Иван Михайлович Дедюлин (1899–1970). И.М. Дедюлин — автор более 60 научных работ и монографии — «Регуляция кислотно-щелочного равновесия».

В 1952 году на кафедру был передан из кафедры терапии доцентский курс по клинической лабораторной диагностике, руководимый ученицей Д.Л. Романовского доцентом А.И. Бекенской и кафедра получила новое название — биохимии и лабораторной диагностики.

С 1952 до 1976 года кафедрой в течение 24 лет руководил академик Академии медицинских наук профессор Виталий Сергеевич Ильин (1904–1976). За эти годы была значительно расширена и модернизирована программа циклов усовершенствования врачей по биохимии, стали проводиться специализированные циклы по клинической энзимологии. В 1971 году на кафедре впервые в стране был проведен цикл повышения квалификации по клинической биохимии для преподавателей медицинских институтов и ГИДУВов. При нем был создан уникальный практикум по клинической биохимии для врачей-лаборантов, включавший серию пособий, многие из которых не потеряли актуальности и в наше время.

Результаты многолетних исследований по проблеме нервной трофики и обмена веществ были изложены В.С. Ильиным в монографии «Гомеостаз» 1976 г., удостоенной премии им. академика П.Д. Богомольца.

После смерти В.С. Ильина кафедрой в течение 14 лет — с 1977 по 1990 год — возглавлял профессор Роман Аркадьевич Зарембский (1923–1995). Область научных интересов в эти годы была сосредоточена на изучении обмена веществ в норме и при различных заболеваниях, регуляции процессов жизнедеятельности клетки, вопросов организации обучения врачей-лаборантов.

С 1991 по 2022 год кафедрой заведовал Антон Владимирович Козлов (род. 1946). Научно-исследовательская работа продолжалась в рамках направления, начатом Е.С. Лондоном, В.С. Ильиным и посвящена изучению механизмов влияния нервной трофики, гормонов, биологически активных пептидов на клеточный метаболизм в норме и при патологических состояниях, а также вопросам организации лабораторной службы. В 1995 г. на кафедре был открыт курс «Иммунология», что позволило проводить подготовку специалистов по всем разделам лабораторной иммунологии.

После слияния кафедры клинической лабораторной диагностики с кафедрой биологической и общей химии им. В.В. Соколовского, кафедра стала называться «кафедра клинической лабораторной диагностики, биологической и общей химии им. В.В. Соколовского», на которой А.В. Козлов продолжает работу в должности профессора кафедры.

Обучаемый контингент: дополнительное профессиональное образование, ординаторы, студенты: 3-й, 4-й и 5-й курсы медико-профилактического и лечебного факультета. На кафедре работает студенческое научное общество.

Для работы кафедры располагает комплексом помещений, расположенных по адресу ул. Кировная, д. 41 и Пискаревский пр., д. 47. Обучение ординаторов проводится на клинических базах кафедры, среди которых: МЧС-122, ДКЦ № 85, ГП № 34, НИИ АГиР им. Д.О. Отта, РосНИИГТ ФМБА России, Клиника Э.Э. Эйхвальда и Клиника им. Петра Великого и др.

В настоящее время кафедрой возглавляет доктор медицинских наук, доцент Лариса Борисовна Гайковая. Традиции и достижения кафедры в области педагогики и лабораторной медицины позволяют нам с оптимизмом смотреть в будущее.

Список литературы

1. Дубинский А.М., Меркулов В.М. // Лондон Ефим Семёнович. Избранные труды: [Текст]: (К столетию со дня рождения Е.С. Лондона) / под ред. действ. чл. АМН СССР проф. Д.А. Бирюкова; Акад. мед. наук СССР. Ленинград: Медицина. Ленингр. отд-ние, 1968. С. 7–51.

2. Козлов А.В. К 80-летию кафедры клинической лабораторной диагностики СПб МАПО// Лабораторная диагностика. 2006, № 3. С. 3–8.

3. Козлов А.В. Ефим Семенович Лондон // Ученые Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. Т. I. СПб.: СПбМАПО, 2006. С. 339–364.

4. Мазинг Ю.А., Чурилов Л.П. Профессор Ефим Семенович Лондон и военная медицина // Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2018. № 2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/professor-efim-semenovich-london-i-voennaaya-meditsina> (дата обращения: 30,09.2024).

5. Прохорова М.И., Дубинский А.М. Ефим Семенович Лондон. Л.: Изд-во ЛГУ, 1969. 61 с.

6. Форт «Император Александр I». Санкт-Петербург: Остров, 2008. 158 с.

Гайковая Л.Б.

*Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова Минздрава России*

Санкт-Петербург

Larisa.Gaikovaya@szgmu.ru

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

В статье представлены современные маркеры нарушений липидного, углеводного обмена, жировой ткани, а также методы лабораторной диагностики метаболического синдрома и перспективы их развития.

Ключевые слова: *маркеры, метаболический синдром, лабораторные методы.*

Gaikovaya L.B.

*North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov*

St. Petersburg

MODERN TRENDS IN LABORATORY DIAGNOSTICS OF METABOLIC SYNDROME

The article presents modern markers of disorders of lipid and carbohydrate metabolism, adipose tissue, as well as methods of laboratory diagnosis of metabolic syndrome and prospects for their development.

Keywords: *markers, metabolic syndrome, laboratory methods.*

Эксперты ВОЗ охарактеризовали метаболический синдром (МС), как «пандемию XXI века», который характеризуется увеличением массы висцерального жира, снижением чувствительности периферических тканей к инсулину и гиперинсулинемией с развитием нарушений углеводного, липидного, пуринового обмена и артериальной гипертензии. К лабораторным диагностическим маркерам МС можно отнести показатели, позволяющие оценить возможный риск развития данного синдрома, его прогрессирование и эффект применяемой лекарственной терапии.

К критериям диагностики МС относятся основной и дополнительные признаки. Основным является центральный

(абдоминальный) тип ожирения, когда окружность талии (ОТ) более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин. К дополнительным критериям относятся артериальная гипертензия (АД $\geq 140/90$ мм рт. ст.), повышение уровня триглицеридов ($\geq 1,7$ ммоль/л), снижение уровня ХС ЛПВП ($< 1,0$ ммоль/л у мужчин; $< 1,2$ ммоль/л у женщин), повышение уровня ХС ЛПНП $> 3,0$ ммоль/л, гипергликемия натощак (глюкоза в плазме крови натощак $\geq 6,1$ ммоль/л), нарушение толерантности к глюкозе (глюкоза в плазме крови через 2 часа после нагрузки глюкозой в пределах $\geq 7,8$ и $\leq 11,1$ ммоль/л).

Наличие у пациента центрального ожирения и 2 из дополнительных критериев является основанием для диагностирования у него МС.

Критериями ВОЗ (1999) для диагностики МС являются инсулиновая резистентность (хотя бы 1 признак), сахарный диабет (СД) 2-го типа, повышение уровня глюкозы крови натощак, нарушение толерантности к углеводам, нарушение транспорта глюкозы в ткани при проведении эугликемического гиперинсулинового клэмп-теста и наличие не менее 2 признаков, таких как прием лекарственных препаратов, снижающих АД и/или повышение АД $> 140/90$ мм рт.ст., повышение уровня триглицеридов $> 1,7$ ммоль/л, снижение уровня ЛПВП $< 0,9$ ммоль/л у мужчин или < 1 ммоль/л у женщин, индекс массы тела (ИМТ) > 30 кг/м² или соотношение окружность талии к окружности бедер ОТ/ОБ $> 0,9$ у мужчин и $> 0,85$ у женщин, экскреция альбумина с мочой > 20 мкг/мин или соотношение альбумина к креатинину > 30 .

Основным компонентом метаболического синдрома является инсулинорезистентность, которая устанавливается при наличии СД 2-го типа, при повышении уровня глюкозы крови натощак, нарушении толерантности к углеводам или нарушении транспорта глюкозы в ткани при проведении эугликемического гиперинсулинового клэмп-теста у лиц с уровнем глюкозы натощак $< 6,1$ ммоль/л.

Методы лабораторной диагностики инсулинорезистентности делятся на прямые и непрямые. Прямые методы, это когда осуществляется инфузия инсулина и оцениваются его эффекты на метаболизм глюкозы. К ним относятся инсулиновый тест, эугликемический гиперинсулинемический клэмп-тест,

являющийся «золотым стандартом» и инсулиновый супрессивный тест. К непрямым методам, которые направлены на оценку эффектов эндогенного инсулина относятся пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) — самый простой, внутривенный глюкозотолерантный тест и постоянная инфузия глюкозы с модельной оценкой.

Алгоритм диагностики МС на основе оценки теста толерантности к глюкозе представлен на рисунке 1.

В качестве дополнительного диагностического показателя МС для оценки инсулинорезистентности может быть использован индекс НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance), который рассчитывается по формуле: $\text{НОМА-IR} = \frac{\text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} \times \text{глюкоза натощак (ммоль/л)}}{22,5}$, где 22,5 — расчетный коэффициент, используемый для выражения данного индекса в ммоль/л.

Повышение значений индекса НОМА-IR отмечается при повышении уровня глюкозы или инсулина натощак, что соответствует повышению резистентности клеток и тканей к инсулину и повышенному риску развития СД 2-го типа и сердечно-сосудистых заболеваний.

Референтный интервал НОМА IR для лиц от 20 до 60 лет находится в пределах от 0 до 2,7. На результат может повлиять время сдачи биоматериала на исследование; прием лекарственных препаратов; беременность [1].

Некоторые авторы предлагают диагностировать стадии МС с помощью оценки гликированного гемоглобина (HbA1c). А.Н. Дмитриев и соавт. (2009) предложили способ диагностики стадий МС, включающий определение классических составляющих, отличающийся тем, что дополнительно определяют HbA1c и при наличии клинических и/или лабораторных составляющих МС, не более 2, и нормальном уровне HbA1c диагностируют 1-ю стадию МС; при сочетании клинико-лабораторных признаков МС и уровне HbA1c >6,1% диагностируют 2-ю стадию МС с патогенетически значимым нарушением инсулинорецепторного связывания, компенсаторной гиперинсулинемией; при наличии 3 и более клинико-лабораторных составляющих МС, по критериям ВОЗ, с СД 2-го типа диагностируют 3-ю стадию МС [2].

Алгоритм диагностики МС



Рис. 1. Алгоритм диагностики метаболического синдрома (ВОЗ, 1999)

Лабораторными маркерами нарушения липидного обмена, которые определяют в рутинной практике клинко-диагностических лабораторий являются общий холестерин (ОХ), триглицериды, ХС-ЛПНП (LDL), ХС-ЛПОНП, ХС-ЛПВП (HDL). Для МС наиболее характерны показатели нарушения липид-транспортной системы — гипертриглицеридемия, повышение ХС-ЛПНП и снижение ХС-ЛПВП. По данным клинического исследования UKPDS (the United Kingdom Prospective Diabetes Study), у больных СД увеличение ХС-ЛПНП на 1 ммоль/л повышает риск развития ИБС на 57% [3].

Однако измерение соотношения апобелков Апо-В/АпоА-1 может быть более информативным, чем измерение просто соотношения ХС-ЛПНП/ХС-ЛПВП. Это более показательный маркер, так как отражает уровни других атерогенных белков ХС-ЛПОНП и ХС-ЛППП и сохраняет свой предикторный потенциал даже при гиполипидемической терапии.

Кроме общеизвестных показателей липидного обмена последние годы клинико-диагностические лаборатории расширяют ассортимент тестов, по оценке липидного спектра. Например, lipoprotein (a)— макромолекулярный комплекс является основной транспортной формой липидов в организме; вырабатывается в печени и по липидному составу почти не отличается от ЛПНП.

Повышенная концентрация Lp(a) ассоциирована с увеличенным риском патологии коронарных сосудов, ИМ, инсульта. Уровень Lp(a) в крови определяется преимущественно генетическими факторами, у пожилых женщин выше, чем у мужчин. Lp(a) конкурирует с плазминогеном за связывание с рецептором. Референсный интервал Lp(a) — от 0 до 75 нмоль/л.

Окисленные липопротеины низкой плотности (Oxidized LDL, oLDL), окислительное-модифицированная форма ЛПНП (ox-LDL) более важна, чем нативные ЛПНП при атерогенезе. Окисленные ЛПНП активируют клетки эндотелия, продуцирующие MCP-1 (моноцитарный хемотоксический протеин), который привлекает моноциты из просвета сосуда в субэндотелиальное пространство; ускоряют дифференциацию моноцитов в макрофаги; вызывают выделение макрофагами провоспалительных цитокинов, способствующих проникновению моноцитов в субэндотелиальное пространство.

К факторам, влияющим на лабораторные показатели липидного обмена, на преаналитическом этапе относятся: взятие крови на исследование утром, натощак (после 12 часов голода), алкоголь, диета, лекарственные препараты, условия забора крови (длительность наложение жгута), условия хранения и транспортировки пробы крови. Аналитический этап включает проведение лабораторного анализа, но на результаты показателей липидного обмена может влиять состояние проб крови, которые могут быть с хилезом, гемолизом и иктеричностью. Постаналитический этап заключается в оценке результатов в динамике, в одном типе пробы крови (сыворотка или плазма). Однократное исследование бывает непоказательно из-за значительных индивидуальных колебаний уровня ХС и его фракций и триглицеридов, поэтому рекомендуется проводить исследования несколько раз.

Известно, что многие лекарственные препараты влияют на показатели липидного обмена. Так, по данным Н.В. Рязанцевой и соавт. (2008) прием мочегонных препаратов повышает концентрацию холестерина и ЛПНП, а также и другие лекарственные средства могут влиять на липидный обмен [4].

Самым значимым маркером первичных нарушений при МС является повышение уровня неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК). Биохимический метод определения НЭЖК обладает высокой воспроизводимостью, чувствительностью, экономически оправдан и может быть рекомендован для лабораторий любого уровня. По мнению Ефременко Ю.Р. (2012) анализ уровня НЭЖК должен быть включен в алгоритмы обследования при проведении диспансеризации и у лиц из групп риска. Мониторинг НЭЖК имеет не меньшее значение [5].

У 46,2% больных с МС с нормальным уровнем общего холестерина имело место повышенное содержание именно свободного холестерина. Это позволило авторам сделать вывод о том, что определение общего холестерина не отражает все нарушения липид-транспортной системы, в то время как содержание свободной фракции является более чувствительным показателем нарушения холестерина метаболизма у данной категории обследованных.

К маркерам жировой ткани относятся лептин, резистин, TNF- α , адипонектин, висфатин, белок, стимулирующий ацетилирование (ASP), липопротеиновая липаза, ретинол-связывающий белок (RBP4), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), IL-6, ингибитор 1-го типа активатора плазминогена (PAI1) и др. [6].

Лабораторный мониторинг МС можно дополнить определением концентрации лептина. Лептин осуществляет медиаторную функцию между жировой тканью и гипоталамо-гипофизарной системой. Уровень лептина повышается с увеличением массы тела у мужчин и женщин, повышение массы тела на 10% на 300% увеличивает уровень сывороточного лептина.

Повышенный уровень лептина объясняется «резистентностью к лептину», т.е. неспособностью лептина проникать в спинномозговую жидкость и далее к участкам связывания в гипоталамусе, отвечающим за регуляцию аппетита [7].

По результатам работы E. Falahi и соавт. (2015) концентрация лептина выше в группе пациентов с МС, а уровень адипонектина ниже (<4 мкг/мл), что указывает на парадоксальный эффект их при МС. Более высокое соотношение лептина к адипонектину является лучшим биомаркером для критериев диагностики МС, чем определение лептина и адипонектин по отдельности.

Высокомолекулярный адипонектин (<2,5 мкг/мл) может быть наиболее надежным биомаркером для критериев диагностики МС [8].

Метаболические эффекты адипонектина заключаются в увеличении окисления ЖК и захвата глюкозы тканями, снижении синтеза триглицеридов и глюкозы в печени, его противовоспалительный эффект проявляется повышением чувствительности тканей к инсулину и снижением атерогенности липопротеинового профиля плазмы (уменьшение концентрации ЛПОНП и повышение концентрации ЛПВП). Адипонектин оказывает также непосредственное влияние на секрецию гепатоцитами апо А-1 и В [9].

В последние десятилетия научные представления о метаболическом синдроме претерпели постепенную эволюцию от эндокринной этиопатологии к воспалительному патогенезу, ранее считалось, что МС — это только эндокринная проблема, связанная с резистентностью к инсулину [10].

С точки зрения лабораторной медицины это имеет огромное влияние на направление исследований по разработке адекватного диагностического метода для этой очень важной и актуальной для страны проблемы здравоохранения — МС.

В связи с этим бурный рост получили молекулярно-генетические исследования. МикроРНК регулируют воспалительную реакцию, адипогенез, а также метаболизм глюкозы и липидов, которые участвуют в МС. В различных клинических исследованиях были выявлены связи между миР-146а и миР-122 с факторами риска развития МС, а также наблюдалась связь миР-222 с ожирением, липидным обменом, гликемическим метаболизмом и хроническим воспалением, а также связь миР-126, миР-221 и миР-423 с ожирением, липидным и гликемическим метаболизмом.

Большая часть циркулирующей микроРНК была повышена у лиц с факторами риска развития МС, что демонстрировало

корреляцию с гликемическими и липидными маркерами и ожирением тела [11].

Внеклеточные микровезикулы (ВВ) выделяются адипоцитами, находящимися в стрессе. ВВ способствуют миграции и активации макрофагов. В исследовании А. Eguchi и соавт. (2016) получили характеристику стрессированных ВВ, полученных из адипоцитов, оценив их антигенный состав, липидомику и профили РНК. Перилипин А был идентифицирован как один из белков, специфичных для жировой ткани, и рассматривался как потенциальный новый биомаркер для обнаружения ВВ, полученных из адипоцитов, в крови. Количество циркулирующих ВВ было значимо выше у мышей и у людей с ожирением и МС по сравнению с контрольной группой. Увеличение ВВ было связано со снижением толерантности к глюкозе у мышей и метаболической дисфункцией, повышенным уровнем инсулина и инсулинорезистентности (НОМА-IR) у людей с ожирением.

ВВ как от мышей, так и от людей, страдающих ожирением, были богаты перилипином А, центральным привратником хранилища липидов адипоцитов и маркером дифференцировки адипоцитов. У людей, страдающих ожирением, циркулирующие уровни ВВ, обогащенных перилипином А, снижались на 35% ($p < 0,05$) после 3-х месячного применения диеты с пониженной калорийностью. Перилипин А — новый биомаркер циркулирующих ВВ адипоцитного происхождения, который рассматривают в качестве индикаторов здоровья жировой ткани. У людей ген перилипина (PLIN) локализован в хромосомном месте 15q26.1, в области, ранее связанной с ожирением, гипертриглицеридемией и диабетом [12].

Таким образом, за последние годы в связи с бурным развитием лабораторных технологий диагностика метаболического синдрома расширилась от определения рутинных показателей глюкозы, липидного спектра до современных биомаркеров жировой ткани и определения внеклеточных микровезикул из адипоцитов. Поиск новых маркеров продолжается.

Список литературы

1. Ефременко Ю.Р., Королева Е.Ф., Контрощикова К.Н. Оценка роли биохимических показателей в диагностической картине метаболического синдрома с использованием

дискриминантного анализа/Современные технологии в медицине. 2012. № 4. С. 85-88.

2. Дмитриев А.Н., Сарапульцев П.А., Трельская Н.Ю. Способ диагностики стадий метаболического синдрома/патент на изобретение RU 2321354 С2, 10.04.2008. Заявка № 2006113753/14 от 21.04.2006

3. Аметов А.С., Сокарева Е.В. Нарушения липидного обмена при сахарном диабете 2-го типа и их коррекция. РМЖ. 2009;24:1586

4. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Жукова О.Б., Уразова О.И., Радзивил Т.Т., Кулагина И.В., Ковалева Н.П. Современные технологии лабораторной медицины учебное пособие для студентов, обучающихся по специальностям 060112 — медицинская биохимия, 060113 — медицинская биофизика, 060114 — медицинская кибернетика / Томск, 2008

5. Ефременко Ю.Р., Королева Е.Ф., Контрощикова К.Н. Приоритетное направление в лабораторной диагностике метаболического синдрома // Медицинский альманах. 2012. № 2 (21). С. 82-84

6. Lee M.J., Fried S.K. Integration of hormonal and nutrient signals that regulate leptin synthesis and secretion // Am. J. Physiol Endocrinol Metab 2009; 29 (6):230–238], [Strikanthan P. Relative muscle mass is inversely associated with insulin resistance and prediabetes. Findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. J Clin Endocrinol Metab 2011: 96(9):2898

7. Небесная Л.В. Лабораторная диагностика метаболического синдрома. Лептин/Торсуевские чтения: научно-практический журнал по дерматологии, венерологии и косметологии. 2021. № 1 (31). С. 47-49.

8. Falahi E., Hossein A., Rad K., Roosta S. What is the best biomarker for metabolic syndrome diagnosis? Diabetes Metab Syndr.2015 Oct-Dec;9(4):366-72. doi: 10.1016/j.dsx.2013.06.014. Epub 2013 Jul 31

9. Таянский Д.А., Денисенко А.Д. Влияние адипонектина на обмен углеводов, липидов и липопротеинов: анализ сигнальных механизмов. Ожирение и метаболизм.2021;18(2):103-111. <https://doi.org/10.14341/omet12754>

10. Goswami K, Gandhe M. Evolution of metabolic syndrome and its biomarkers/Diabetes Metab Syndr. 2018 Nov;12(6):1071-1074. doi: 10.1016/j.dsx.2018.06.027. Epub 2018 Jun 30.]
11. Brandão-Lima P.N., de Carvalho G.B., Payolla T.B., Sarti F.M., Rogero M.M. Circulating microRNA Related to Cardiometabolic Risk Factors for Metabolic Syndrome: A Systematic Review/Metabolites. 2022 Oct 30;12(11):1044. doi: 10.3390/metabo12111044
12. Eguchi A., Lazic M., Armando A. M., Phillips S.A., Katebian R., Maraka S., Quehenberger O., Sears D.D., Feldstein A.E /Circulating adipocyte-derived extracellular vesicles are novel markers of metabolic stress. J Mol Med. 2016 Nov; 94(11):1241-1253. doi: 10.1007/s00109-016-1446-8. Epub 2016 Jul 9.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ХИМИИ ПРИРОДНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, А ТАКЖЕ ПРИМЕНЕНИЕ ХИМИИ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ

УДК 544.77.022.533

Балкунова М.Н., Лисовский Д.С.

*Санкт-Петербургский государственный химико-
фармацевтический университет*

Санкт-Петербург

margarita.balkunova@spcpu.ru;

lisovskij.dmitrij@pharminnotech.com

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ НАНОЧАСТИЦ СОЕВОГО ЛЕЦИТИНА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ

В работе изучено влияние внешних условий (температура, количество замораживаний) на характеристики наночастиц лецитина соевого (средний размер частиц, агрегационная и седиментационная стабильность) в растворах с различным рН, ионной силой, концентрацией.

Ключевые слова: *лецитин соевый, липосомы, устойчивость липосом, изоэлектрическая точка, высаливание, агрегация.*

Balkunova M.N., Lisovsky D.S.

St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University

St. Petersburg

STUDYING THE STABILITY OF SOY-BEAN LECITHIN NANOPARTICLES IN AQUEOUS SOLUTIONS IN VARIOUS CONDITIONS

The influence of various conditions (such as temperature, number of freezing and thawing) to soy-bean lecithin nanoparticle properties (such as average particle size, aggregation and sedimentation stability) in aqueous solutions under various pH, ionic strength and concentration was determined.

Keywords: *soy-bean lecithin, liposomes, stability of liposomes, isoelectric point, salinization effect, aggregation.*

Введение. Липосомы представляют собой замкнутые пузырьки, образованные одним или несколькими последовательно расположенными липидными бислоями, внутри которых заключено пространство, заполненное водным раствором и изолированное от внешней среды. Липосомы нашли широкое применение в медицине, косметике, пищевой промышленности [1]. В медицине и фармацевтике липосомы используются в качестве резервуаров для лекарственных препаратов, обеспечивающих их сохранение, доставку в заданную точку органа-мишени и последующее высвобождение действующего вещества. Таким образом, липосомы могут применяться для повышения стабильности препарата при хранении, для обеспечения адресной доставки лекарств, для обеспечения пролонгированного высвобождения лекарственных веществ. В настоящее время существует около 20 липосомальных лекарственных препаратов, большая часть из которых создана для лечения раковых заболеваний и опухолей [2]. Не менее перспективным остаётся использование липосом как контейнеров для доставки нуклеиновых кислот из-за невысокой химической и термической стабильности последних [3].

Бислои липосом построены из молекул липидов, упрощённо их можно представить как молекулы, имеющие полярную головку и гидрофобный хвостик. В водных растворах, а равно и в растворах в полярных растворителях, молекулы липидов разворачиваются так, чтобы гидрофобные хвосты находились внутри мембраны (имели наименьший контакт с водой), а полярные головки находились на поверхности мембраны. Мембраны большинства получаемых липосом, как и биологические мембраны в организмах состоят из фосфолипидов, таких как фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, а также содержат в составе небольшие добавки веществ нелипидной природы, таких как холестерин, для придания мембране необходимой пластичности и проницаемости [4]. Наличие в составе липосом фосфолипидов, из которых построены биологические мембраны клеток, делает липосомы биосовместимыми.

В большинстве случаев фосфолипиды извлекают из природного сырья из-за его доступности и дешевизны. Лецитин,

полученный из соевых бобов, является липидным концентратом, содержащим в составе набор фосфолипидов различного строения, а также примесь незаряженных липидов.

Ранее авторами проводилось изучение характеристик частиц в растворах лецитина [5–7].

Целью работы является изучение стабильности наночастиц соевого лецитина во времени при разных условиях.

Задачи:

— изучить зависимость среднего размера частиц во времени для водных растворов лецитина в концентрациях выше ККМ — 0,08% и 0,16%;

— изучить зависимость среднего размера частиц лецитина во времени в растворах с различной ионной силой — 0 (вода), 0,001 моль/л, 0,01 моль/л, 0,1 М моль/л;

— изучить зависимость среднего размера частиц во времени для растворов лецитина в концентрации выше ККМ 0.16% при различных значениях pH 2, 4, 6, 7, 8, 10;

— изучить зависимость среднего размера частиц во времени для растворов лецитина при различной температуре — 20°C, 5°C, -18°C (стабильность при замораживании и оттаивании);

— оценить седиментационную стабильность растворов.

Материалы и методы

В качестве сырья для получения липидных наночастиц использовался лецитин соевый фирмы «ПРОТЕИН», производства ФРГ, содержащий в составе не менее 45% фосфатидилхолина, не менее 25% фосфатидилэтаноламина, не менее 17% фосфатидилинозитола, сумма фосфолипидов не менее 97%.

Растворы лецитина готовили в воде, либо в растворе хлорида калия (Х. Ч., производства «ВЕКТОН») в качестве индифферентного электролита для поддержания ионной силы.

Для изучения влияния ионной силы готовили растворы с содержанием 0,08% и 0.16% лецитина, путем его растворения в растворах хлорида калия концентрациями 0,001 моль/л, 0,01 моль/л, 0,1 М моль/л.

Для получения растворов лецитина содержанием 0,16% и заданным pH навеску лецитина растворяли в 0,001 моль/л растворе хлорида калия (для нивелирования влияния ионной силы), для доведения и поддержания нужного значения pH по

каплям добавляли к раствору 0,1 М соляную кислоту, либо 0,1 М гидроксид натрия. Контроль pH осуществляли с использованием pH-метра Mettler Toledo F-20 (Великобритания).

Растворение навески лецитина проводили при комнатной температуре при перемешивании. Растворы хранили при заданной температуре в закрытых сосудах без доступа кислорода воздуха в темноте.

Спектр растворов снимали на спектрофотометре СФ-2000, для определения среднего размера частиц обрабатывали значения оптических плотностей с использованием эмпирических уравнений Геллера.

Измерение для растворов проводилось сразу после приготовления, далее с одинаковыми интервалами в течение 28 суток.

Результаты и обсуждение. Было установлено, что частицы при концентрациях выше ККМ со временем агрегируют (слипаются), в конечном итоге процесс приводит к седиментации — выпадению фосфолипидных агрегатов в осадок под действием силы тяжести. Процесс является концентрационно-зависимым, так как скорость агрегации зависит от концентрации липида — при увеличении концентрации скорость агрегации и седиментации возрастает.

При увеличении ионной силы средний размер частиц, а равно и скорость агрегации частиц возрастают, это связано с подавлением диссоциации слабых электролитов — фосфолипидов в составе мембраны, и, соответственно, уменьшением поверхностного Z-потенциала. Кроме того, имеет место и высаливающий эффект, выражающийся в уменьшении толщины гидратных оболочек вокруг липидных мембран.

Молекулы фосфолипидов (фосфатидилхолина и др.) содержат в составе диссоциирующие группы — фрагмент дважды этерифицированной ортофосфорной кислоты (ОН-группа с диссоциацией по кислотному типу с отщеплением протона), аминогруппы (четвертичная аминогруппа фосфатидилхолина NR_3^+ , не диссоциирует; или NH_2 -группа в фосфатидилэтаноламине, которая способна протонироваться, переходя в катион NH_3^{+}). Данные группы способны избирательно сорбировать ионы H^+ , причем процесс равновесный, ход которого зависит от pH раствора. В сильноокислых средах ОН-группа в

остатке фосфорной кислоты находится в ассоциированном состоянии, NH_2 -группы находятся в протонированной форме, а целом молекула будет заряжена положительно. В сильнощелочных средах OH -группы диссоциированы и находятся в виде аниона $-\text{O}^-$, аминогруппы депротонированы — в целом молекула заряжена отрицательно. Заряд молекул, а, следовательно, поверхности влияет на величину сил отталкивания. При увеличении заряда (по модулю), увеличиваются силы отталкивания, тем самым затрудняется агрегация частиц.

В кислых и сильнощелочных растворах наблюдались частицы наименьшего размера, при этом замедлялась их агрегация, что, в целом, способствовало повышению устойчивости частиц. Однако, в сильнокислой области происходит резкое увеличение средних размеров частиц, что сопровождается достаточно быстрой седиментацией липидных наночастиц. Этот факт можно объяснить неспецифическим высаливающим действием электролита на частицы лецитина, так как сильнокислые растворы имеют большую ионную силу. Растворы в точке ИЭТ и вблизи неё должны иметь наименьшую стабильность, так как заряд поверхности в таком случае близок к нулю. Однако, растворы с pH , близким к ИЭТ показали большую стабильность по сравнению с сильнокислыми растворами. Это можно объяснить большим вкладом высаливающего действия и подавления диссоциации слабых электролитов в составе мембраны, по сравнению с уменьшением поверхностного заряда только за счет специфической сорбции H^+ вблизи ИЭТ.

Сравнение характеристик частиц в растворах, хранящихся при комнатной температуре (20°C) и в холодильнике (5°C), не показало значимой корреляции между температурой хранения с одной стороны и средними размерами частиц, скоростью агрегации и седиментации с другой. Установлено, что при замораживании/оттаивании происходит уменьшение среднего размера частиц, что может объясняться распадом крупных агрегатов при замораживании из-за разрыва липидного бислоя и образованием более мелких частиц при оттаивании раствора. Однако, при повторных циклах замораживания/оттаивания столь же значимого изменения размеров частиц не происходит.

При стоянии растворов происходит седиментация липида из раствора, этот процесс ускоряется в растворах с большой ионной силой, а также в сильноокислых растворах. Однако, при диспергировании полученного осадка в растворе (путем обычного перемешивания) вновь получается коллоидный раствор, седиментация липида из которого происходит более суток. Измерение же средних размеров частиц, вновь диспергированных в раствор, показывает лишь тенденцию к незначительному увеличению размеров, что может говорить о наличии обратимой агрегации лецитина из водных растворов.

Заключение. В ходе работы было установлено следующее.

- С увеличением ионной силы раствора увеличивается средний размер частиц. Агрегация и седиментация в растворах с большой ионной силой протекает быстрее по сравнению с растворами в воде или сильно разбавленном электролите.

- Наименьшую устойчивость имеют сильноокислые растворы, что объясняется высаливающим действием электролита в растворах с низким рН, причём этот эффект имеет большее влияние на стабильность, чем уменьшение заряда поверхности частиц из-за сорбции H^+ .

- Уменьшение температуры при хранении растворов не оказывает значимого эффекта на характеристики частиц и устойчивость растворов.

- При замораживании/оттаивании происходит уменьшение среднего размера частиц из-за распада агрегатов в процессе заморозки.

- Процессы агрегации носят, предположительно, обратимый характер, так как при диспергировании осадка липидных наночастиц после седиментации вновь полученные коллоидные растворы сохраняют свои характеристики.

Список литературы

1. Климов, А. В. Липосомы как метод адресной доставки лекарств / А. В. Климов, Ю. О. Пономарева // NovaInfo.Ru. 2023. № 140. С. 194–196. EDN BQDURM.

2. Peng Liu, Guiliang Chen, Jingchen Z. A Review of Liposomes as a Drug Delivery System: Current Status of Approved Products, Regulatory Environments, and Future Perspectives // Molecules. 2022. Vol. 27. P. 1–23, 10.3390 / molecules27041372. doi: 10.3390/molecules27041372.

3. Михеев А.А., Шмендель Е.В., Жестовская Е.С., Назаров Г.В., Маслов М.А. Катионные липосомы как средства доставки нуклеиновых кислот. Тонкие химические технологии. 2020;15(1):7-27. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-1-7-27>.

4. Hamdi Nsairat, Dima Khater, Usama Sayed et al. Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications // Heliyon. 2022. V. 8, I. 5, 10.1016 / j.heliyon.2022.e09394. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09394.

5. Лисовский Д.С., Дмитриева И.Б. Влияние физико-химических факторов на средний размер липидных наночастиц соевого лецитина в водных растворах. Бутлеровские сообщения С. 2024. Т.8. №3. Id.12. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-116/ROI-jbc-RC/24-8-3-12.

6. Dimitry S. Lisovsky, Irina B. Dmitrieva. Influence of physical-chemical factors to soybean lecithin lipid nanoparticles average size in aqueous systems. Butlerov Communications С. 2024. Vol.8. No.3. Id.12. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-116/ROI-jbc-C/24-8-3-12.

7. Шерстнев В.В., Чухно А.С., Попов А.С., Иванова И.С., Сучкова К.М., Востряков Е.В. Физико-химические свойства модифицированного бычьего сывороточного альбумина: влияние условий гелеобразования на изоэлектрическую точку и реологию. Бутлеровские сообщения С. 2024 Т.8. С.90–102. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-90.

УДК 615.4; 54.052

Беляев А.П.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

Санкт-Петербург

Alexei.Belyaev@pharminnotech.com

ПОЛУЧЕНИЕ РОМБИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ПАРАЦЕТАМОЛА ИЗ ПАРОВОЙ ФАЗЫ

В статье сообщается о получении кристаллов парацетамола ромбической сингонии методом дифференциальной сканирующей калориметрии из паровой фазы.

***Ключевые слова:** парацетамол, ромбическая модификация, дифференциальная сканирующая калориметрия, паровая фаза.*

Belyaev A.P.

*St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University
St. Petersburg*

OBTAINING THE RHOMBIC FORM OF PARACETAMOL FROM THE VAPOR PHASE

The preparation of paracetamol crystals of the rhombic syngony by differential scanning calorimetry from the vapor phase is reported.

Keywords: *paracetamol, rhombic modification, differential scanning calorimetry, vapor phase.*

Парацетамол (N-(4-гидроксифенил) ацетамид) — молекулярный кристалл, введенный в практическую фармакологию в середине прошлого века, является одним из самых популярных анальгетиков. Сегодня, по прошествии более чем ста лет, продолжают активные исследования его свойств и способов их модификации.

Парацетамол может кристаллизоваться в трех различных полиморфных формах, известных как Формы I, II и III. Форма I, молекулярный кристалл моноклинной модификации, является стабильной при естественных условиях. Однако она характеризуется низкой технологичностью, ей присуща сыпучесть, плохое смачивание и плохое растворение. Форма II, молекулярный кристалл ромбической модификации, легко подвергается пластической деформации, подходит для прямого прессования, хорошо растворяется. Форма III крайне неустойчива и, поэтому не имеет практического значения. Ниже приводятся данные о получении кристаллов ромбической модификации из паровой фазы.

Эксперимент. Модельные объекты синтезировались путем вакуумного испарения порошка парацетамола кристаллов моноклинной сингонии из специального кварцевого реактора при температуре 420 К с последующей конденсацией пара на медную подложку, температура которой $T_s=300$ К. Толщина пленок составляла величину ~ 1000 μm . Вакуум поддерживался на уровне $\sim 10^{-3}$ Ра. Тепловые свойства изучались в специальной колориметрической ячейке (модифицированный аналог DSC-2), позволявшей производить исследования непосредственно в процессе синтеза образцов. Скорость нагревания и охлаждения

соответствовала 10K/min. Измерения проводились в области температур 290–390 К.

Структурные исследования проводились на дифрактометре ДРОН-4 и оптическом микроскопе МБС-10.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 приведены типичные кривые дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), полученные при нагревании (сплошные линии) и охлаждении (пунктирные линии) образца парацетамола на разных стадиях его жизни. Кривая 1 снята непосредственно при синтезе образца с последующим после синтеза нагреванием (охлаждением); кривая 2 соответствует второму циклу нагревания и охлаждения. На кривых видны экзотермические и эндотермические пики, амплитуды которых от цикла к циклу уменьшались. В третьем цикле пики вообще не регистрировались.

Свежеприготовленная пленка представляла собой гелеобразную липкую систему, плотно сцепленную с подложкой, в матрице которой можно было обнаружить белые включения (рис. 2, а). После проведения трех циклов «нагрев — охлаждение» пленка белела и затвердевала (рис. 2, б).

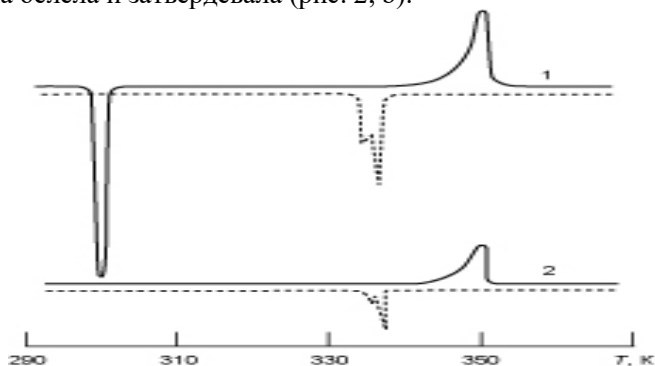


Рис. 1. Кривые ДСК, полученные при нагревании (сплошные линии) и охлаждении (пунктирные линии) образца парацетамола снятые при первом (1) и втором (2) циклах «нагрев – охлаждение»

Изменения морфологии пленки сопровождалось изменениями ее кристаллической структуры. Об этом свидетельствуют данные

рентгенофазового анализа (рис. 3). Если свежеприготовленная пленка имела кристаллическую структуру, соответствующую моноклинной сингонии (рис. 3b), ее принято обозначать как Форма I, то после трех циклов ДСК структура становилась ромбической (рис. 3a), ее принято обозначать как Форма II.

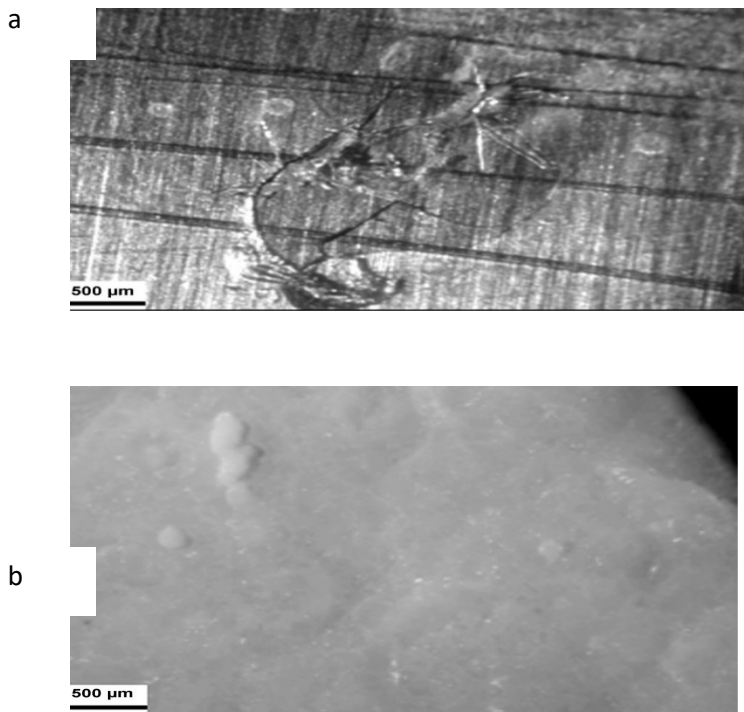


Рис. 2. Микрофотографии свежеприготовленной (а) и после фазовых превращений (b) пленки парацетамола

Форма II считается неустойчивой. В нашем случае плавление образца или измельчение пленки способствовали перекристаллизации в Форму I (см. рис. 3, в).

Форму II получают только специальными методами. Авторы [1, 2] наблюдали перекристаллизацию Формы I в Форму II при проведении сложных циклов «нагревание — охлаждение» со стекловидной массой парацетамола. Процесс сопровождался возникновением экзотермических пиков на кривых ДСК при

$T_{max}=340-349$ К, что почти совпадает с данными нашего эксперимента (рис. 1). Гистерезис эндо- и экзопиков в циклах нагревание-охлаждение связан как с методическими, так и физическими причинами. Методическая причина смещения пиков при использовании метода ДСК связана с наличием термосопротивления образца в колориметрической ячейке, которое существенно зависит от массы и скорости сканирования [3]. Оно может быть учтено при вариации скоростей сканирования. В нашем опыте наблюдалась зависимость положения пиков от скорости сканирования, но, к сожалению, приборные возможности не позволили осуществить методику [3] и получить истинные, методически неискаженные значения температуры фазовых превращений.

В работе [4] нами было показано, что фазовый переход пар — кристалл при вакуумном синтезе кристаллов парацетамола осуществляется как суперпозиция двух фазовых переходов: перехода первого рода с изменением плотности и переходом

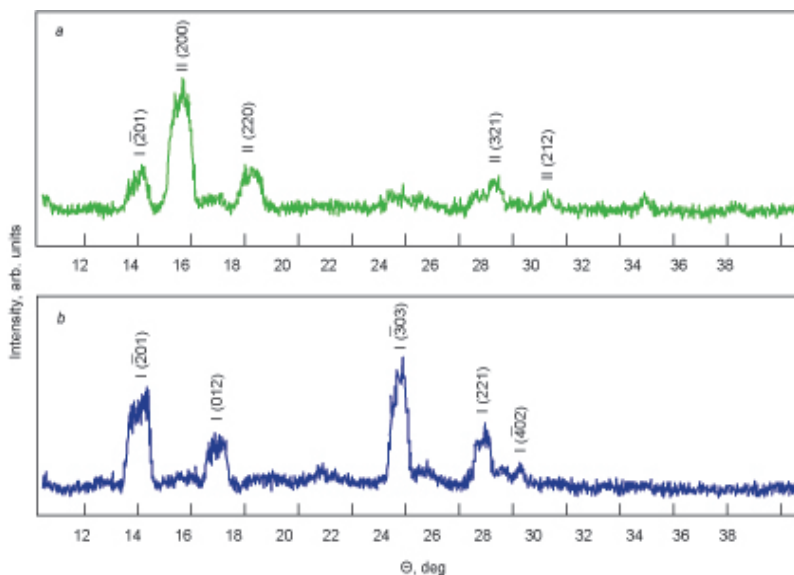


Рис. 3. Спектр дифракции рентгеновских лучей свежеприготовленной (b) и после фазовых превращений (a) пленки парацетамола

второго рода с изменением упорядоченности, что, можно было наблюдать как процесс образования гелеобразной фазы в сочетании с образованием кристаллической структуры. Данные ДСК (рис. 1) свидетельствуют, что вторая часть превращения также осуществляется сложным образом: с образованием некоего промежуточного состояния. Форма кривых ДСК указывает, что превращение относится к размытым фазовым переходам. Причиной размытия, являются упругие деформации, сопровождающие фазовый переход. При размытом фазовом переходе превращение охватывает не весь объем образца одновременно, а охватывает вначале лишь его часть вблизи дефектов, где возникают зародыши новой фазы. Их можно видеть на микрофотографиях в виде белых островков (рис. 2). Изменение фазового состояния происходит постепенно, в некотором интервале температур. Увеличение объема новой фазы происходит порциями, путем их присоединения к новой на межфазных границах. В нашем случае новая фаза (Форма II) возникает из некоего предпереходного состояния, которое является обратимым. Об его обратимости свидетельствует экзотермический пик на кривой ДСК, возникающий при охлаждении образца и эндотермический пик при повторном нагревании. Уменьшение амплитуды пиков от цикла к циклу указывает на постепенный характер превращения и на необратимый расход «предпереходной фазы».

Возникновение «предпереходной фазы», мы связываем с упругими напряжениями, сопровождающими переход. Процесс зародышеобразования непосредственно в исходной фазе становится маловероятным и это приводит к образованию промежуточного состояния, в котором зародыши образуются гораздо легче.

Заключение. Представленные результаты позволяют констатировать, что фазовый переход пар — кристалл при вакуумном синтезе парацетамола из паровой фазы осуществляется сложным образом в виде суперпозиции двух фазовых переходов: перехода первого рода с изменением плотности и переходом второго рода с изменением упорядоченности. Переход второго рода протекает в виде размытого фазового перехода с образованием некой

«предпереходной фазы», необратимо расходуемой в процессе фазового превращения.

Методика вакуумного синтеза из паровой фазы с использованием циклов нагрев — охлаждение позволяет получать кристаллы парацетамола ромбической модификации (Форма II).

Список литературы

1. Martino P.Di., Confant P., Drache M., Huvenne J.-P., Guyot-Hermann A.-M. // J. Thermal Analysis. 1997. V.48.P.447 -458
2. Delmas T., Shah U.V., Robert M.M., Williams D.R., Heng J.Y.Y // Powder Technology. 2013. V. 236. P. 24–29.
3. Малыгин Г.А. // УФН. 2021. Т. 171, № 2. С. 187–211.
4. Беляев А.П., Рубец В.П., Калинин И.П. // ЖТФ. 2001. Т. 71. Вып. 4. С. 133–135.

УДК 579.61: 615.28: 615.33

¹*Васильева Н.Г., ¹Козлова-Козыревская А.Л.,*

¹*Мицкевич Е.Н., ²Огейко В.Г.*

¹*Белорусский государственный педагогический университет
имени Максима Танка*

²*Средняя школа № 142 г. Минска*

Минск, Республика Беларусь

ogeiko@rambler.ru, lady.kozy@mail.ru,

elenamitskevich35@gmail.com, ogeikov@mail.ru

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ АНТИБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Авторы статьи рассматривают проблемы, возникающие на пути создания эффективных антибиотических препаратов в связи с существующей высокой резистентностью бактерий к существующим антибиотикам. Также приводятся возможные направления работы химиков-синтетиков, биотехнологов и других специалистов с целью создания антибиотиков нового поколения.

Ключевые слова: *антибиотики, резистентность бактерий, LpxC-ингибиторы, прецизионная медицина, CRISPR-основанные технологии, фаговые технологии.*

Vasilyeva N.H.¹, Kozlova-Kozyrevskaya A.L.¹,

Mitskevich E.N.¹, Ogeiko V.H.²

*¹The Belorussian State Pedagogical University
named Maksim Tank
Minsk*

*²SIE «SS № 142 of Minsk»
Minsk*

PROBLEMS AND PROSPECTS FOR CREATING ANTIBIOTIC DRUGS

The authors of the article consider the problems that arise in the creation of effective antibiotic drugs due to the existing high resistance of bacteria to existing antibiotics. Possible areas of work for synthetic chemists, biotechnologists and other specialists with the aim of creating a new generation of antibiotics are also given.

Keywords: *antibiotics, bacterial resistance, LpxC inhibitors, precision medicine, CRISPR-based technologies, phage technologies.*

На современном этапе развития человечества совершенствуются не только технологии, но, к сожалению, и микромир, а именно вирусы и бактерии, в том числе и патогенные [1-3]. К сожалению, это требует постоянного поиска новых лекарственных препаратов в борьбе с ними, в частности, создания новых антибиотических средств. Синтез антибиотиков — это сложный процесс, связанный с рядом проблем, которые могут быть как технологическими, так и биологическими. Основные из них включают:

1. Сложность молекулярного строения: многие антибиотики представляют собой сложные молекулы, которые трудно синтезировать химическим путем. Эти молекулы часто имеют множество хиральных центров и функциональных групп, требующих точной пространственной ориентации, что усложняет процесс их получения.

2. Низкий выход и эффективность: химический синтез антибиотиков может быть малоэффективным и давать низкий выход продукта. Это связано с большим количеством стадий в синтезе, сложностью очистки целевого соединения и возможностью побочных реакций.

3. Биосинтез и его регулирование: некоторые антибиотики синтезируются с использованием микроорганизмов или ферментов. Регулирование и оптимизация биосинтетических путей требуют глубоких знаний о метаболизме микроорганизмов

и тонкой настройке условий культивирования, что также усложняет процесс.

4. Резистентность бактерий: даже если новый антибиотик удается синтезировать, возникает проблема устойчивости бактерий. Многие бактерии уже приобрели резистентность к существующим антибиотикам, и новые соединения могут быстро утрачивать эффективность из-за способности микроорганизмов к быстрой адаптации.

5. Экономическая рентабельность: разработка и синтез новых антибиотиков требует значительных финансовых вложений. Фармацевтические компании могут столкнуться с трудностями в обосновании затрат на разработку новых препаратов, особенно с учетом того, что многие из них могут не пройти клинические испытания или быстро потерять актуальность из-за резистентности.

6. Экологические и этические проблемы: процесс химического синтеза может быть связан с использованием токсичных реагентов и побочных продуктов, что создает экологические риски. Кроме того, использование животных моделей в исследовательских процессах порождает этические вопросы.

7. Правовые и регуляторные барьеры: разработка новых антибиотиков также сталкивается с серьезными регуляторными требованиями и длительным процессом сертификации, что может затягивать внедрение новых препаратов на рынок.

Это, конечно, далеко не все проблемы на пути синтеза высокоэффективных антибиотических средств, но наиболее значимые. Именно они делают синтез антибиотиков сложной и многоступенчатой задачей, требующей междисциплинарного подхода и инновационных решений.

В настоящее время химики, биотехнологи и пр. специалисты работают над созданием антибиотиков нового поколения — препаратов, разработанных с учетом новых научных достижений и предназначенных для преодоления проблем, связанных с устойчивостью бактерий к существующим антибиотикам. Основные направления разработки таких антибиотиков включают:

1. Антибиотики с новыми механизмами действия, например, LpxC-ингибиторы, которые нацелены на бактериальные липидные пути, нарушая биосинтез липополисахаридов в

мембране грамотрицательных бактерий. К этой группе можно отнести антибиотики, нарушающие клеточную стенку: например, разработка соединений, которые атакуют определенные ферменты, участвующие в синтезе клеточной стенки, но не затрагивают структуры, на которые нацелены традиционные β -лактамы антибиотики.

2. Антибиотики на основе пептидов, например, антимикробные пептиды (АМП): эти короткие пептиды обладают способностью разрушать мембраны бактерий или взаимодействовать с их внутриклеточными структурами. В отличие от традиционных антибиотиков, они действуют широким спектром против различных патогенов, включая устойчивые к антибиотикам штаммы.

3. Комбинированная терапия и синергетические препараты:

– β -лактамы + ингибиторы β -лактамаз: эта комбинация помогает преодолеть устойчивость бактерий, разрушающих β -лактамы антибиотики;

– синергия антибиотиков с другими препаратами. Использование комбинаций антибиотиков с веществами, подавляющими механизмы резистентности бактерий, такими как ингибиторы эффлюксных насосов.

4. Персонализированные антибиотики:

– прецизионная медицина: разработка антибиотиков, нацеленных на специфические бактериальные штаммы или механизмы резистентности, выявленные у конкретного пациента. Это позволяет снизить вероятность развития резистентности и улучшить эффективность лечения.

5. Антибиотики, нацеленные на микробиом (так называемая модуляция микробиома). Такие антибиотики минимально нарушают полезные микробиомы человека, обеспечивая при этом уничтожение патогенных бактерий. Это важно для предотвращения дисбиоза и снижения риска вторичных инфекций.

6. Фаговая терапия, а именно создание бактериофагов. Вирусы, которые специально инфицируют и уничтожают бактерии, становятся перспективным методом лечения устойчивых инфекций. Бактериофаги могут быть настроены на специфические патогены, не влияя на другие микробы.

7. CRISPR-основанные технологии, например, CRISPR-Cas: эта технология редактирования генов может быть использована для точечного уничтожения бактериальных генов, ответственных за устойчивость к антибиотикам, что делает бактерии уязвимыми для существующих антибиотиков.

8. Нанотехнологии: создание наночастиц, которые будут использоваться для доставки антибиотиков непосредственно к бактериальным клеткам, что увеличивает эффективность и снижает побочные эффекты. Наночастицы также могут разрушать бактериальные биопленки, которые часто устойчивы к традиционным антибиотикам.

Примерами антибиотиков нового поколения могут быть следующие:

– тедизолид: представитель оксазолидинонов, используемый для лечения инфекций, вызванных резистентными грамположительными бактериями.

– цефтолозан/тазобактам: новая комбинация цефалоспорина с ингибитором β -лактамаз, эффективная против грамотрицательных бактерий.

– плазмицин: полусинтетический аминогликозид, эффективный против карбапенем-резистентных энтеробактерий.

Таким образом, несмотря на существующую проблему, связанную с необходимостью поиска новых антибиотических препаратов, эффективных в отношении современных патогенных бактерий, совершенствуются и разработки лекарственных препаратов. И эти разработки направлены на решение проблем резистентности и обеспечение эффективного лечения бактериальных инфекций в условиях эволюционирующей микробной среды.

Список литературы

1. Саркова, В.В., Нумонова, А.А., Хегай, Р.О. Антибиотикорезистентность или борьба с глобальной угрозой XXI века / В.В. Саркова, Нумонова А.А., Хегай Р.О. // Science and innovation. 2022. V. 1, I. 8. P. 232-241. URL: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7342772> (дата обращения: 14.08.2024).

2. Васильева, Н.Г., Козлова-Козыревская, А.Л. К вопросу синтеза лекарственных препаратов / Н.Г. Васильева, А.Л. Козлова-Козыревская // Современные достижения химико-

биологических наук в профилактической и клинической медицине: сборник научных трудов 2-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2-3 декабря 2021 года / под ред. А.В. Силина, Л.Б. Гайковой. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2021. С. 56-59.

3. Всемирная организация здравоохранения. Устойчивость к антибиотикам [Электронный ресурс]. 2021. URL: <https://www.who.int/ru> (дата обращения: 14.08.2024).

УДК 615.013+79601

Гришин В.В.¹, Гришин В.В.²

*¹НГУ физической культуры спорта и здоровья
им. П.Ф. Лесгафта*

*²Санкт-Петербургский государственный химико-
фармацевтический университет
Санкт-Петербург*

¹w.grischin@yandex.ru; ²w.grishin54@mail.ru

**ПРИМЕНЕНИЕ АДАПТОГЕНОВ У ДЕВУШЕК,
СПЕЦИАЛИЗИРУЮЩИХСЯ В БЕГЕ НА СРЕДНИЕ
ДИСТАНЦИИ, С УЧЕТОМ ФАЗ ОВАРИАЛЬНО-
МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА**

Для достижения максимальных спортивных результатов женщинами для сохранения их здоровья обязательно должны учитываться половые особенности. Из множества фармпрепаратов следует выделить применение адаптогенов — биомодуляторов с минимальным побочным эффектом, действующих за счёт влияния на метаболические процессы и не запрещенные ВАДА.

Ключевые слова: адаптогены, фармакологическая коррекция, экстракт элеутерококка.

Grishin V.V.¹, Grishin V.V.²

*¹NSU of Physical Culture, Sports and Health named after
P.F. Lesgaft*

*²State Chemical-Pharmaceutical University
St. Petersburg*

THE USE OF ADAPTOGENS IN GIRLS SPECIALIZING IN MIDDLE-DISTANCE RUNNING, TAKING INTO ACCOUNT THE PHASES OF THE OVARIAN-MENSTRUAL CYCLE

In order to achieve maximum sports results for women, gender characteristics must be taken into account to maintain their health. Of the many pharmaceuticals, the use of adaptogens should be highlighted — biomodulators with minimal side effects, acting by influencing metabolic processes and not prohibited by WADA.

Keywords: *adaptogens, pharmacological correction, eleutherococcus extract.*

Введение. В современном мире биологическая и фармакологическая коррекция функционального состояния и работоспособности спортсмена приобретает все большую значимость. В последние годы тенденцией является активное участие в спортивных состязаниях представительниц женского пола. При этом, тренировочный процесс женщин зачастую строится по общепринятой методике, разработанной для мужчин, и подразумевает значительные тренировочные нагрузки без учета специфики работы женского организма [1–3].

Наибольший интерес с точки зрения фармакологической коррекции представляют препараты комплексного действия, которые лишены негативных побочных эффектов и не включают структур, компонентов и манипуляций, отнесенных Всемирным антидопинговым агентством (ВАДА) к перечню запрещенных [4–7]. Среди них можно выделить адаптогены, — биомодуляторы, оптимизирующие функциональное состояние и работоспособность спортсменов за счет влияния на метаболические процессы [8].

Актуальность нашей работы состоит в том, что несмотря на значительную изученность эффектов использования растительных адаптогенов в спортивной подготовке, не раскрытыми остаются особенности их применения в различных фазах овариально-менструального цикла девушек, специализирующихся в беге на средние дистанции. При этом учет биологических циклов при планировании тренировочного процесса и использовании фармакологических средств является

крайне важным как для повышения эффективности тренировок, так и для сохранения здоровья спортсменок [9, 10].

Цель исследования: разработать и экспериментально обосновать методику применения адаптогенов растительного происхождения (элеутерококка) для улучшения функционального состояния и работоспособности девушек-легкоатлетов, специализирующихся в беге на средние дистанции, с учетом фаз овариально-менструального цикла.

Материалы исследования. Планируя спортивную нагрузку, тренер руководствуется схемой распределения объема различных тренировочных средств и видов тренировочных нагрузок по фазам ОМЦ представленной на рис. 1. Особенностью данной схемы является снижение объема и интенсивности нагрузок в менструальной (фаза 1) и постменструальной (фаза 2) фазах, особенно для работы анаэробной направленности [2].

Исходя из представленной схемы, а также литературных данных о динамике функционального состояния и работоспособности в различные периоды ОМЦ нами была разработана схема применения экстракта элеутерококка для повышения адаптационных возможностей девушек-легкоатлетов.

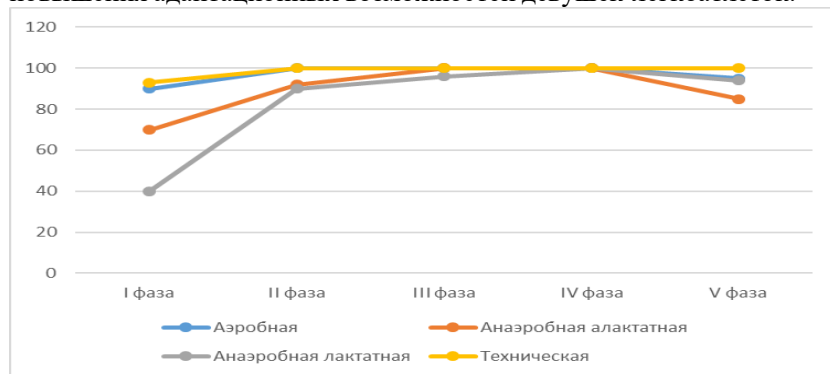


Рис. 1. Распределение объема тренировочных нагрузок по фазам ОМЦ в процессе подготовки девушек-легкоатлетов (в % от запланированных нагрузок для данного этапа подготовки)

В качестве активного препарата был выбран экстракт элеутерококка (*Eleutherococci extract*), действующее вещество которого — экстракт спиртовой сухого корневища с корнями

элеутерококка колючего (измельченного) (1:1), а вспомогательное вещество — спирт этиловый 40%.

Методы исследования: анкетирование, методы оценки эффективности экспериментального воздействия, частота сердечных сокращений (ЧСС) покоя, проба Мартине–Кушелевского, максимальное потребление кислорода, математико-статистическая обработка данных.

Частоту сердечных сокращений измеряли в условиях покоя в положении сидя пульсометром Polar. Измерение проводили сразу после пробуждения. Для большей точности измерения проводились не менее трех раз, до стабилизации показателя ЧСС.

Максимальное потребление кислорода (МПК) рассчитывалось косвенным путем используя программу, встроенную в пульсометры фирмы Polar. Для исследования были использованы устройства Polar P300, Polar V800, Polar RS800, Polar FT80, которые подключались к нагрудным датчикам пульса и к смартфону. Спортсменки измеряли МПК после пробуждения в положении лежа. Для этого на устройстве (смартфоне), связанном с пульсометром запускался тест Polar Fitness Test, который не требует каких-либо двигательных действий, а рассчитывает показатель максимального потребления кислорода (МПК) на основе косвенных данных: рост, вес, пол, возраст, ЧСС и вариабельность сердечного ритма в покое, самооценка уровня долгосрочной физической активности за последние полгода. Значения рассчитанного МПК (измеряемого в мл/мин/кг) позволяют прогнозировать текущую максимальную аэробную мощность измеряемого спортсмена. Фактически это отражает количество миллилитров кислорода, которое организм способен транспортировать и использовать при физической работе на каждый килограмм массы в течение одной минуты.

Прием препарата осуществлялся по схеме, представленной на рис. 2: в течение второй (постменструальной) фазы — 40 капель один раз в день за 30–40 мин до еды, в течение третьей (овуляторной) и четвертой (постовуляторной) фазы — 40 капель два раза в день за 30–40 мин до еды, в течение пятой (предменструальной) — 30 капель один раз в день за 30–40 мин до еды. Длительность фаз цикла для каждой спортсменки рассчитывалась индивидуально на основе данных самоконтроля за предыдущие месяцы.

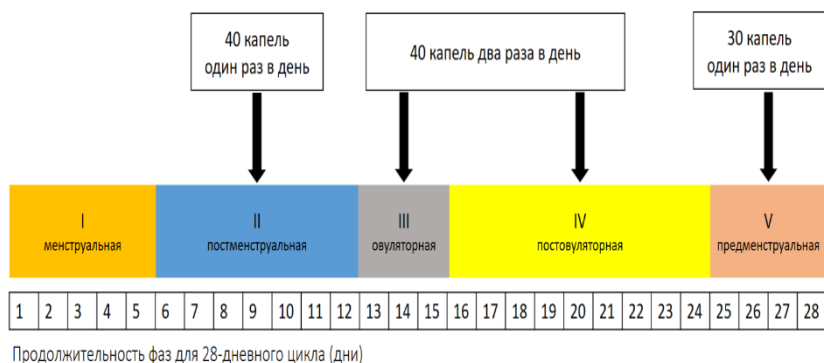


Рис. 2. Применение элеутерококка в зависимости от фаз ОМЦ и планируемой физической нагрузки

Результаты и их обсуждение. Анализируя полученные результаты спортсменок экспериментальной и контрольной групп, мы не выявили значимых различий в показателях пробы Мартине–Кушелевского.

Тестирование проводили в постовуляторной фазе менструального цикла, во время которой у девушек (по результатам предварительной беседы со спортсменами и тренерами) независимо от специфики протекания ОМЦ не отмечалось снижения работоспособности и ухудшения эмоционального состояния. Результаты тестирования функционального состояния сердечно-сосудистой системы представлены на рисунках 3 и 4.

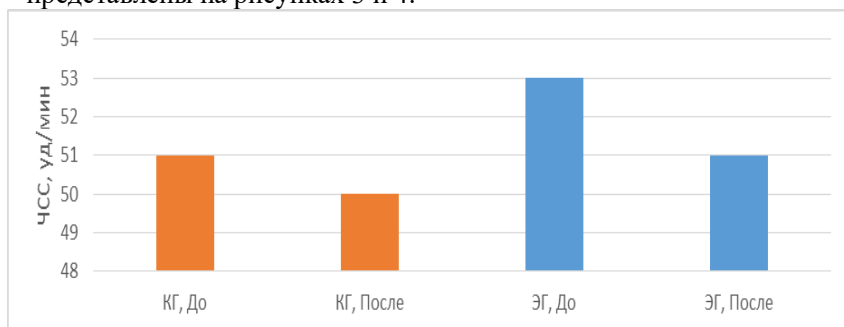


Рис. 3. Результаты итогового тестирования частоты сердечных сокращений в покое

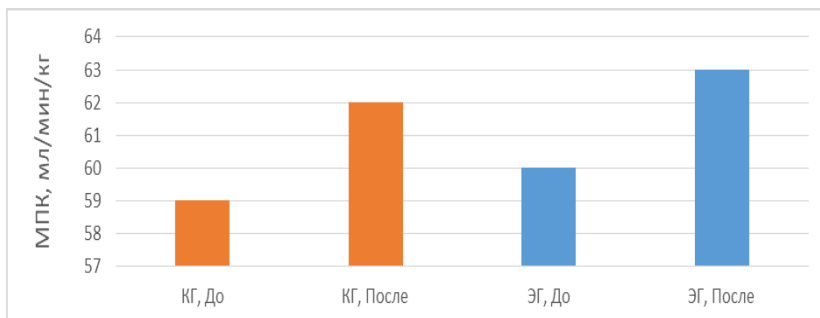


Рис. 4. Результаты итогового тестирования максимального потребления кислорода

Декларируемое в литературе «генерализованное воздействие» элеутерококка на организм не подтверждается с точки зрения повышения показателей аэробной производительности в течение двух месяцев тренировок и 24–28-дневного приема адаптогена.

Помимо показателей состояния ССС, измеряемых в покое, рассматривались индикаторы нагрузочного тестирования. Результаты пробы Мартине–Кушелевского, выполненной в рамках итогового тестирования представлены в таблице 1, и на рисунках 5 и 6.

Таблица 1

**Результаты итогового нагрузочного тестирования
сердечно-сосудистой системы — проба Мартине–
Кушелевского**

Показатель	КГ, до	КГ, после	ЭГ, до	ЭГ, после	Значимость различий КГ и ЭГ после эксперимента (p)
ΔЧСС, %	79	71	74	62*	0,097
ΔСАД, % (увеличение)	21	32	29	24	0,254
ΔДАД, % (уменьшение)	15	9	12	12	0,775
Время восстановления, с	136	129	140	102*	0,043

Примечание: *значимые отличия от результатов промежуточного тестирования; КГ — контрольная группа; ЭГ — экспериментальная группа.

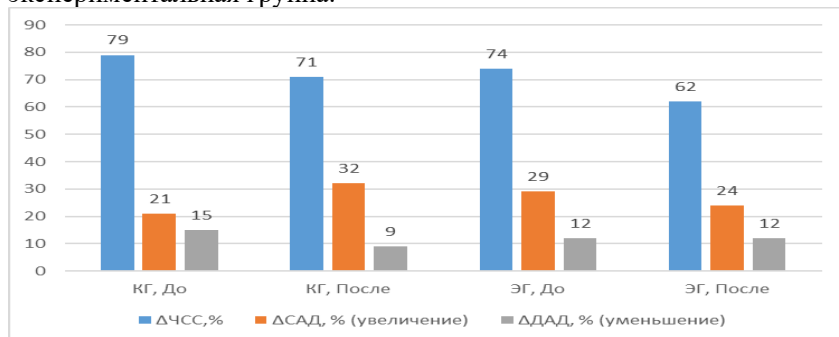


Рис. 5. Результаты выполнения пробы Мартине–Кушелевского в рамках итогового тестирования

Были выявлены положительные результаты по сравнению с данными промежуточного тестирования, особенно в экспериментальной группе. Проявлением данных изменений является как менее выраженный прирост ЧСС после нагрузки (в контрольной группе выраженность реакции ЧСС снизилась на 13,4%, в экспериментальной — на 25,3%). При этом отличия прироста ЧСС в экспериментальной группе статистически значимы относительно результатов промежуточного тестирования ($p=0,039$) по критерию Вилкоксона для связанных выборок. В других показателях (изменение систолического и диастолического давления) не было установлено статистически значимых различий как при сравнении с данными предыдущих тестирований, так и при межгрупповом сравнении. Однако в обеих группах можно наблюдать положительную динамику и в этих показателях, поскольку увеличение пульсового объема наряду со снижением прироста ЧСС в ответ на нагрузку демонстрирует снижение «биологической стоимости работы» за счет оптимизации работы кардиореспираторных механизмов.

Единственный показатель, по которому были получены различия — время восстановления после физической нагрузки (в пробе Мартине–Кушелевского), в контрольной группе среднее значение данного показателя в итоговом тестировании составило 102 секунды, что на 25% превышает среднегрупповое значение контрольной группы (136 секунд). Данные различия являются статистически значимыми по t критерию Стьюдента для независимых выборок ($p=0,043$). Кроме этого, статистически значимыми являются улучшения скорости восстановления спортсменок экспериментальной группы относительно данных промежуточного тестирования ($p=0,047$) и предварительного тестирования ($p=0,024$). Установление данных различий было выполнено с использованием t критерия Стьюдента для связанных выборок. В процентном отношении изменения составили 32,8% и 27% по сравнению с промежуточным и предварительным тестированием соответственно.

Выявленные различия указывают на то, что у легкоатлеток экспериментальной группы под действием тренировочных нагрузок и применения экстракта элеутерококка произошла экономизация работы сердечно-сосудистой системы. Отсутствие столь выраженных изменений резервных возможностей ССС при

мышечной работе в контрольной группе позволяет указать на роль приема элеутерококка. Положительное влияние данного препарата на адаптационные возможности организма указывает на целесообразность его использования в процессе подготовки девушек, специализирующихся в беге на средние дистанции.

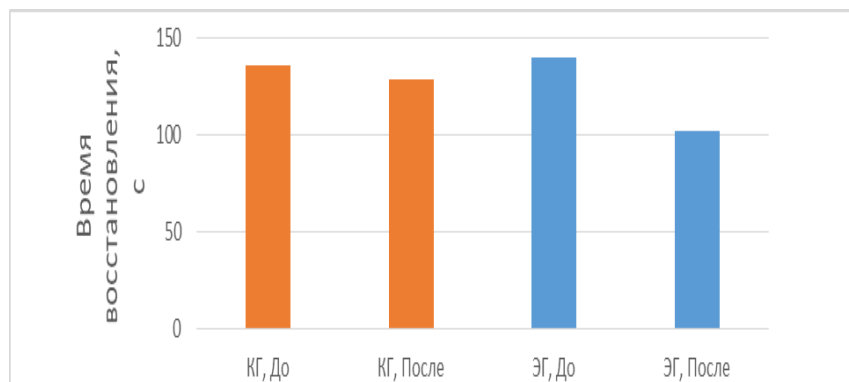


Рис. 6. Результаты восстановления ЧСС после пробы Мартине–Кушелевского, выполненной в рамках итогового тестирования

Выводы. Была разработана схема применения экстракта элеутерококка для оптимизации функционального состояния и работоспособности девушек, специализирующихся в беге на средние дистанции, с учетом фаз овариально-менструального цикла.

Проведенное исследование указывает на ограниченную эффективность разработанной схемы приема экстракта элеутерококка для оптимизации функционального состояния и работоспособности девушек-легкоатлеток.

При оценке адаптационных возможностей организма в поствульторной фазе после окончания приема препарата было установлено, что девушки, принимавшие его, имеют статистически значимо ($p < 0,05$) более высокую скорость восстановления после однократной физической нагрузки. В экспериментальной группе время восстановления в пробе Мартине–Кушелевского составило 102 секунды, что на 33% превосходит результат контрольной группы (136 секунд). По остальным параметрам сердечно-сосудистой системы не было

установлено значимых различий между группами, однако средние показатели прироста ЧСС в пробе Мартине–Кушелевского у экспериментальной группы превышают таковые в контрольной на 14%, что не является значимым различием, однако демонстрирует направленность изменений.

Список литературы

1. Алексеева Э.А. Молекулярные механизмы действия растительных адаптогенов // медицина И. – 2021. – С. 2

2. Васин С. Особенности тренировочного процесса женщин с учетом протекания овариально-менструального цикла // Инновационная наука. 2016. № 8-3. С. 114-116.

3. Калинин А.В., Ломазова Е.В., Соколова О.Н., Гришин В.В., Гришин В.В., Чухно А.С. Фармакологическая коррекция электрокардиографических признаков утомления. Бутлеровские сообщения. 2023. Т. 74. № 4. С. 87-98. ROI: jbc-01/23-74-4-87

4. Некраса И.А., Бибик Е.Ю., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. Адаптогены: современные реалии и перспективы поиска новых эффективных и безопасных лекарственных средств (обзор литературы и собственных исследований) // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. ИИ Мечникова. 2020. Т. 12, № 2. С. 17-26.

5. Сафронова Н. Фармакологическая коррекция психофункционального состояния футболистов // Агаджанянские чтения. 2020. С. 192–193.

6. Власова Ю.А., Загородникова К.А., Иванова И.С., Чухно А.С. Влияние окислительного стресса на нейротоксический эффект ацетаминофена. Бутлеровские сообщения. 2019. Т.59. №9. С.106-109. ROI: jbc-01/19-59-9-106

7. WADA. The Prohibited List [Электронный ресурс]. URL: <https://www.wada-ama.org/en/prohibited-list#search-anchor> (дата обращения 06.12.2022).

8. Шерстнев В.В., Чухно А.С., Попов А.С., Иванова И.С., Сучкова К.М., Востряков Е.В. Физико-химические свойства модифицированного бычьего сывороточного альбумина: влияние условий гелеобразования на изoeлектрическую точку и реологию. Бутлеровские сообщения С. 2024 Т.8. №3. Id.9. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-90/ROI-jbc-RC/24-8-3

9. Чухно А.С., Кременевская М.И., Шерстнев В.В., Дмитриева И.Б., Иванова И.С., Попов А.С., Романенко М.С., Жалко М.Е. Исследование специфики механизма образования белково-пористой матрицы на основе бычьего сывороточного альбумина. Бутлеровские сообщения. 2022 Т.69. №2. С.127-136. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/22-69-2-127.

10. Кременевская М.И., Шерстнев В.В., Чухно А.С., Романенко М.С., Тухватуллина Е.Р., Рудометова М.О., Сучкова К.М. Получение белково-пористых гидрогелей на основе на основе бычьего сывороточного альбумина на основе механизма тепловой и индуцированной агрегации белковых молекул // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине. Сб. науч. тр. 3-й Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А.П. Бресткина. СПб., 2022. С. 102-108.

УДК 547.9

Дадали В.А., Соколова Е.А., Степанова Н.П., Антонова Ж.В.

*Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербург*

VDadali@mail.ru; Elena.Sokolova@szgmu.ru;

Natalya.Stepanova@szgmu.ru;

Zhanna.Antonova@szgmu.ru

О ТЕРМОЛАБИЛЬНОСТИ КАРОТИНОИДОВ — КОМПОНЕНТОВ ПЧЕЛИНОЙ ПЕРГИ

Статья посвящена исследованию термолабильности каротиноидов пчелиной перги. Показано изменение поглощения каротиноидов при термостатировании (37–38 °С) в течение 12 часов и при нагревании на кипящей водяной бане (80–100 °С) в течение 1 часа. Проанализировано изменение содержания каротиноидов при длительном хранении перги при комнатной температуре (20 °С). Для сохранения ценных нутриентов в продуктах пчеловодства можно рекомендовать их хранение при пониженной температуре или в замороженном виде.

Ключевые слова: *каротиноиды, пчелиная перга, термолабильность, спектральный анализ.*

Dadali V.A., Sokolova E.A., Stepanova N.P., Antonova Zh.V.

*North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov
St. Petersburg*

ABOUT THERMAL LABILITY OF CAROTENOIDS — COMPONENTS OF BEE BREAD

The article is devoted to the study of the thermal stability of carotenoids of the bee bread. A change in the absorption of carotenoids was shown during thermostating (37–38 °C) for 12 hours and when heated in a boiling water bath (80–100 °C) for 1 hour. The changes in the carotenoid content during long-term storage of bee bread at room temperature (20 °C) were analyzed. To preserve valuable nutrients in bee products, it can be recommended to store them at a reduced temperature or in frozen form.

Keywords: *carotenoids, bee bread, thermal stability, spectral analysis*

Актуальность. Каротиноиды — важнейшие антиоксиданты, защищающие клетки от воздействия активных форм кислорода и свободных радикалов, повышающие резистентность организма к воздействию канцерогенов и мутагенов, уменьшающие риск сердечно-сосудистых, офтальмологических и нейродегенеративных заболеваний [1]. Основными каротиноидами, поступающими с продуктами питания и содержащимися в тканях человека, являются лютеин, зеаксантин, β-криптоксантин, α- и β-каротины, ликопин, фитоеин и фитофлюен. В последние десятилетия большинство из этих каротиноидов обнаружены в продуктах пчеловодства [2]. Содержание нутриентов в пчелиной перге и цветочной пыльце-обножке существенно зависит от места сбора, методов сушки, условий и сроков хранения. По данным литературы [3] содержание в пыльце-обножке витаминов С, Е и β-каротина при хранении более года снижается на 50%, 15% и 59–76% соответственно. При заморозке потери значительно ниже: 26, 13 и 12% соответственно.

Проблема термической устойчивости нутриентов цветочной пыльцы и перги **актуальна**, так как их часто добавляют в продукты питания (обогащенном пергой мёд, йогурты, содержащие пыльцу безглютеновые хлебобулочные изделия и др.), требующие термической обработки.

Целью работы стало исследование термолабильности каротиноидов пчелиной перги.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являются две пробы пчелиной перги, собранные в Северо-Кавказском экономическом районе России. Проба №1: перга приобретена по месту сбора летом 2024 г.; проба №2: перга собрана в 2023 г. и приобретена в торговой точке г. Санкт-Петербурга в 2024 г. (срок хранения 10 месяцев).

Для определения общих каротиноидов использовали пробы массой 1 г, гомогенизированные в 10 мл гексана (2×5 мл) при комнатной температуре (20 °С). Пробы центрифугировали (ЦЛН-2, 3000 g). Надосадочную жидкость, окрашенную в интенсивно желтый цвет, разбавляли гексаном в соотношении 1: 10 и использовали для записи спектра поглощения в диапазоне длин волн 350–500 нм (спектрофотометр Solar PV 1251С). Каждый опыт повторяли трижды.

Количественное определение суммарного содержания каротиноидов в пробах проводили по модифицированной методике [4] при длине волны поглощения β -каротина $\lambda=450$ нм с использованием коэффициента молярной экстинкции $\varepsilon=139049$ л/моль×см и молярной массы β -каротина $M=536,86$ г/моль.

Термолабильность каротиноидов анализировали при температуре А) 20 °С, срок хранения перги 10 месяцев; Б) 37-38 °С, термостатировали в суховоздушном термостате в течение 12 часов; В) 80–100 °С, нагревали на водяной бане в течение 1 часа.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования приведены в табл. 1 и на рис. 1.

Таблица 1

Содержание суммы каротиноидов пчелиной перги при комнатной температуре и при термическом воздействии

Температурные условия	Концентрация общих каротиноидов, $C \times 10^6$, моль/л	Масса суммы каротиноидов, м, мг/кг перги	Длины волн поглощения, λ , нм
Проба № 1			
Хранение при комнатной температуре, $t=20$ °С, 1 месяц	3,17±0,02	170±0,95	450
Термостатирование при $t=37-38$ °С, 12 ч	4,65±0,09	249,8±4,68	439-440
Нагревание при $t=80-100$ °С, 1 ч	2,13±0,02	114,41±1,11	450
Проба № 2			
Хранение при комнатной температуре, $t=20$ °С, 12 месяцев	2,88±0,03	154,70±1,56	450
Термостатирование при $t=37-38$ °С, 12 ч	2,20±0,02	118,34±1,35	440, 450

В спектре поглощения экстракта пчелиной перги пробы №1 наблюдается максимум при длине волны 450 нм, соответствующий полосе поглощения β -каротина, зеаксантина, β -криптоксантина [5].

После инкубации пробы перги при температуре 37–38 °С в течение 12 часов в УФ-спектре гексанового экстракта наблюдается сдвиг полосы поглощения в коротковолновую область на 10 нм. При длине волны 439–440 нм интенсивно поглощают свет молекулы изомеров (9Z)- и (9'Z)-лютеина. Следовательно, при этой температуре продолжаются процессы ферментации с образованием гидроксигиро-ванных ксантофилов, а также их изомеризация. Процесс ферментации сопровождается гидролизом сложноэфирных и гликозидных связей каротиноидов [3].

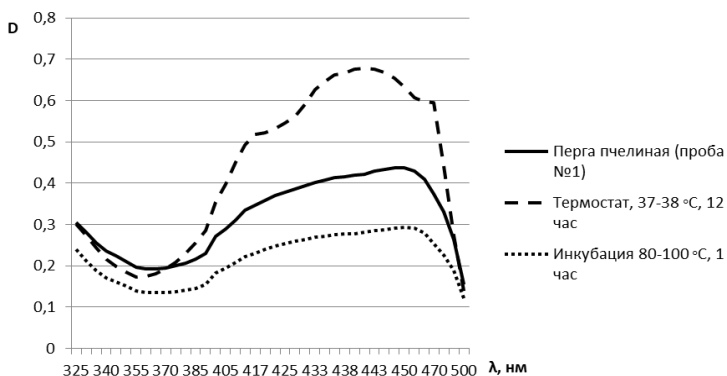


Рис. 1. Спектры поглощения экстрактов перги до и после температурного воздействия

В результате в гексановый экстракт переходит большее количество гидрофобных соединений, что приводит к повышению суммы свободных каротиноидов в исследуемой пробе перги (см. табл. 1). Содержание экстрагированных неполярным растворителем каротиноидов увеличивается на 46,9%. Нагревание на кипящей водяной бане при температуре 80–100 °C в течение 1 ч приводит к снижению содержания общих каротиноидов в результате их термического распада, но при этом максимум полосы поглощения 450 нм сохраняется. При длительном хранении перги (образец № 2) при комнатной температуре суммарное содержание каротиноидов снижается. Термостатирование при температуре 37–38 °C в этом случае приводит к дальнейшему снижению интенсивности поглощения каротиноидов при длине волны 450 нм и появлению полосы поглощения 440 нм.

Для повышения устойчивости терпеноидов и полифенолов перги и защиты их от влияния внешней среды в литературе описаны методы микро- и наноинкапсулирования, позволяющие стабилизировать природные соединения, расширить возможности их использования в составе функциональных продуктов питания и ветеринарных препаратов [6].

Вывод. В работе показана чувствительность каротиноидов перги, содержащих сопряженную систему связей, к воздействию температуры. Полученные результаты позволяют предположить

наличие процессов ферментации при инкубации проб перги при температуре 37-38 °С.

Список литературы

1. Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits / R. Margaoan, M. Stranț, A. Varadi [et al.] // *Antioxidants*. 2019. Vol. 8, No. 12. P. 568. DOI 10.3390/antiox8120568.

2. Bee Pollen and Bread as a Super-Food: A Comparative Review of Their Metabolome Composition and Quality Assessment in the Context of Best Recovery Conditions / M.H. Baky, M.B. Abouelela, K. Wang, M.A. Farag // *Molecules*. 2023. Vol. 28, No. 2. P. 715. DOI 10.3390/molecules28020715.

3. The application of pollen as a functional food and feed ingredient-the present and perspectives / A. Kostic, D.D. Milincic, M.B. Barac [et al.] // *Biomolecules*. 2020. Vol. 10, No. 1. P. 84. DOI 10.3390/biom10010084.

4. Дадали В.А., Соколова Е.А., Степанова Н.П., Власова Е.А., Сенатуллова М.Д. Количественное определение каротиноидов в растительных маслах // *Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: сб.науч.тр. Всероссийской науч.-практ. конф. с международным участием. 3 декабря 2020 года / Под ред. Силина А.В., Гайковой Л.Б. Ч. 1. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2020. С. 63–71.*

5. Lutein Isomers: Preparation, Separation, Structure Elucidation, and Occurrence in 20 Medicinal Plants / V. Nagy, A. Agócs, V.L. Balázs [et al.] // *Molecules*. 2023. Vol. 28, No. 3. P. 1187. doi: 10.3390/molecules28031187.

6. Курегян А.Г., Степанова Э.Ф., Печинский С.В., Оганесян Э.Т. Модель стабилизации субстанций каротиноидов. Хранение и переработка сельхозсырья. № 4, 2020. С. 55-66. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.345>].

УДК 577.151.6, 615.282

**Домнин М.В., Асланлы А.Г., Сенько О.В.,
Степанов Н.А., Ефременко Е.Н.**
*Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова
Москва
domninmaxchem@gmail.com*

ФЕРМЕНТЫ, ПРОЯВЛЯЮЩИЕ ЛАКТОНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ, КАК ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ АГЕНТЫ

Целью данной работы было исследовать возможность применения ферментов, проявляющих лактоназную активность, в качестве противогрибковых агентов. Для этого на основе анализа литературных данных были отобраны ферменты, наиболее целесообразные с точки зрения их лактоназной активности и исследована их противогрибковая активность в отношении клеток различных микроскопических грибов.

Ключевые слова: *лактоназы, кворумный эффект, противогрибковые агенты (не более 8 слов)*

**Domnin M.V., Aslanli A.G., Senko O.V.,
Stepanov N.A., Efremenko E.N.**
*Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University
Moscow*

ENZYMES EXHIBITING LACTONASE ACTIVITY AS ANTIFUNGAL AGENTS

This work is aimed at the investigation of the possibility of using enzymes exhibiting lactonase activity as antifungal agents. For this purpose, based on the analysis of the literature data, the enzymes most suitable in terms of their lactonase activity were selected and their antifungal activity against cells of various microscopic fungi was investigated.

Keywords: *lactonase, quorum sensing, antifungal agents.*

Введение. С каждым годом растет распространенность грибов, способных проявлять устойчивость к воздействию фунгицидов, используемых сегодня на практике, что, в свою очередь, дополнительно усложняет лечение грибковых инфекций, опасных для здоровья человека, животных и сельскохозяйственных культур [1]. Так, согласно недавно

опубликованному исследованию, ежегодный уровень смертности от распространения грибковых инфекций за последнее десятилетие почти удвоился, достигнув ~3,8 млн в год. В 2022 году 19 групп грибов, в том числе *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* и *Cryptococcus neoformans*, были включены Всемирной организацией здравоохранения в список приоритетных грибковых патогенов [2]. Эти патогены вызывают различные инвазивные и неинвазивные инфекции: аспергиллезы, кандидозы, заболевания слизистых оболочек, инфекции верхних дыхательных путей, особенно опасные для людей с иммунодефицитом, а также контаминации различных медицинских изделий: протезов, катетеров, кардиостимуляторов, имплантов и т.д. [3].

Одним из путей развития устойчивости грибов к противогрибковым препаратам является развитие так называемого эффекта кворума (Quorum Sensing, QS) — способности клеток в высококонцентрированных популяциях регулировать экспрессию целевых генов за счет синтеза низкомолекулярных сигнальных молекул. Известно, что так же, как и у грамотрицательных бактерий, среди различных сигнальных молекул кворума грибов встречаются лактонсодержащие соединения (γ -бутиролактон, γ -гепталактон, мультиколевая кислота и т. д.) (рис. 1). В связи с этим одним из перспективных подходов к борьбе с грибковыми патогенами является ферментативный гидролиз лактонсодержащих молекул кворума грибов различными ферментами с лактоназной активностью [4].

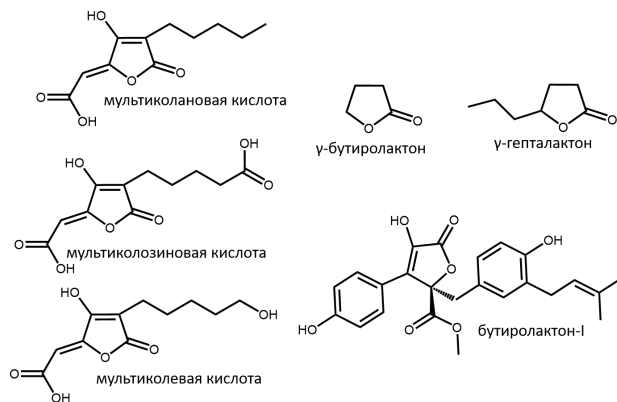


Рис. 1. Структура лактонсодержащих молекул кворума грибов

Целью данной работы было исследовать противогрибковую активность ферментов, проявляющих лактоназную активность. Для этого первоначально на основе литературных данных был проведен сравнительный анализ эффективности действия различных лактоназ в отношении N-ацилгомосеринлактонов (лактонсодержащих молекул кворума грамотрицательных бактерий) и были отобраны ферменты наиболее перспективные, с точки зрения эффективного гидролиза молекул кворума грибов. Далее была исследована противогрибковая активность отобранных ферментов с лактоназной активностью в отношении клеток различных микроскопических грибов.

Результаты и обсуждение

Анализ литературных данных по ферментам, проявляющим лактоназную активность. На сегодняшний день существует ограниченное количество исследований, посвященных использованию ферментов с лактоназной активностью в отношении лактон-содержащих молекул кворума грибов. Однако, активно изучается использование лактоназ для разрушения лактонсодержащих сигнальных молекул кворума бактерий - различных N-ацилгомосеринлактонов (АГЛ). Одним из таких ферментов является гексагистидинсодержащая органофосфатгидролаза (His₆-OPH) [5]. Из литературы также известно, что различные бактериальные лактоназы (AiiA из

Bacillus thuringiensis, AiiB из *Bacillus thuringiensis*, AidC из *Chryseobacterium sp.*, AaL из *Alicyclobacillus acidoterrestris*) [6, 7] способны эффективно гидролизовать молекулы АГЛ. Более того, недавно было показано, что некоторые метало-β-лактамазы (ММ-1 из *Novosphingobium pentaromativorans* и SAM-1 из *Simidiua agarivorans*) также могут проявлять лактоназную активность и способны гидролизовать молекулы АГЛ [8].

Таким образом, исходя из анализа литературы для исследования на предмет противогрибковой активности были выбраны два фермента: органофосфатгидролаза His₆-ОРН и бактериальная лактоназа AiiA. В связи с тем, что большой интерес представляет исследование метало-β-лактамаз в качестве ферментов, способных к гидролизу лактонсодержащих молекул кворума, для исследований была выбрана ранее не изученная на предмет лактоназной активности метало-β-лактамаза NDM-1 (табл. 1).

Таблица 1

Ферменты, отобранные для исследования их противогрибковой активности

№	Ферменты	Источник	Субстраты	$K_{эфф}$ ($мМ^{-1} \cdot с^{-1}$) в отношении С ₆ -АГЛ	Металлы в активном центре
1	AiiA [5]	<i>Bacillus thuringiensis</i>	С ₄ -С ₁₀ -АГЛ, 3ОС ₄ -С ₁₂ - АГЛ, 3ОНС ₄ - АГЛ	5,8	Zn ²⁺ , Mg ²⁺ , Co ²⁺
2	His ₆ - ОРН [6]	<i>Pseudomonas diminuta</i>	С ₄ -С ₈ -АГЛ, 3ОС ₈ -С ₁₂ -АГЛ	6,0	Co ²⁺
3	NDM-1 [7]	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	-	-	Zn ²⁺ , Cd ²⁺ , Co ²⁺

Противогрибковая активность ферментов, проявляющих лактоназную активность

Была исследована противогрибковая активность отобранных ферментов AiiA, His₆-ОРН и NDM-1 в отношении мицелиальных грибов представителей отдела аскомицетов *Aspergillus niger* F679 и зигомицетов *Rhizopus oryzae* F814, а также дрожжей *Candida tropicalis* Y-2245 (рис. 2).

В результате было установлено, что фермент AiiA проявлял значительную эффективность антимикробного действия в отношении *R. oryzae* (остаточная концентрация АТФ менее 25%). А вот в случае клеток *A. niger* и дрожжей *C. tropicalis* снижения концентрации АТФ не наблюдалось.

Эффективность антимикробного действия фермента NDM-1 в отношении исследуемых микроорганизмов была такой же, как и у фермента AiiA, а именно значительное снижение внутриклеточной концентрации у грибов *R. oryzae* (остаточная концентрация АТФ <25%) и отсутствие активности в отношении остальных клеток.

Только в присутствии His₆-ОРН было отмечено снижение концентрации АТФ в клетках *A. niger* (на 25%). В случае *R. oryzae* было отмечено снижение внутриклеточной концентрации АТФ в присутствии His₆-ОРН на 60%.

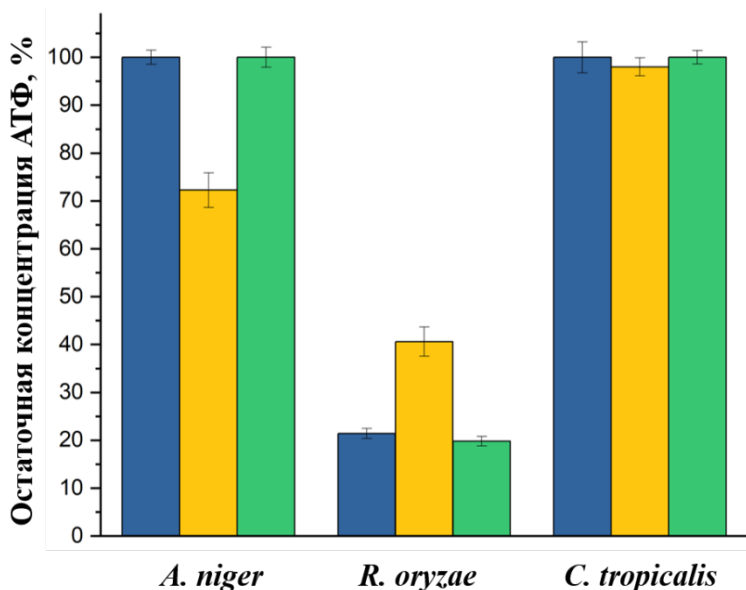


Рис. 2. Антимикробные свойства в отношении *Aspergillus niger* F679, *Rhizopus oryzae* F814 и *Candida tropicalis* Y-2245 ферментов AiiA (■), His₆-OPH (■) и NDM-1 (■). За 100% была принята концентрация АТФ в начальный момент времени в контрольных пробах без добавления ферментов

Таким образом, показана возможность эффективного использования изученных ферментов в качестве противогрибковых агентов на клетках различных мицелиальных грибов и дрожжей. Результаты исследований, полученных в данной работе обладают широким потенциалом практического применения как в медицине в качестве противогрибковых добавок в различные перевязочные материалы, в антисептики и средства для обработки медицинского оборудования, так и в других областях, например, для дезинфекционной обработки помещений, различных поверхностей и т.д.

Работа выполнена при поддержке проекта РФФ № 23-14- 00092.

Список литературы

1. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health / Fisher [et al.] // Nature Reviews Microbiology. 2022. № 20. P. 557–571.
2. WHO Fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action; World Health Organization: Geneva, Switzerland. 2022.
3. Saral R. *Candida* and *Aspergillus* infections in immunocompromised patients: An overview // Clinical Infectious Diseases. 1991. № 13. P. 487–92.
4. Fungal quorum-sensing molecules and inhibitors with potential antifungal activity: A review / Mehmood A. [et al.] // Molecules. 2019. № 24. 1950.
5. Aslanli A., Lyagin I., Efremenko E. Novel approach to quorum quenching: Rational design of antibacterials in combination with hexahistidine-tagged organophosphorus hydrolase // Biological Chemistry. 2018. № 399. P. 869–879.
6. Kanmani A., Ravishankar R. V. Quorum quenching activity of AiiA lactonase KMMI17 from endophytic *Bacillus thuringiensis* KMCL07 on AHL-mediated pathogenic phenotype in *Pseudomonas aeruginosa* // Microbial pathogenesis. 2019. V. 132. P. 230–242.
7. Structural and biochemical characterization of AaL, a quorum quenching lactonase with unusual kinetic properties / Bergonzi C. [et al.] // Scientific Reports. 2018. Vol. 8. 11262.
8. Miraula M., Schenk G., Mitić N. Promiscuous metallo- β -lactamases: MIM-1 and MIM-2 may play an essential role in quorum sensing networks // Journal of inorganic biochemistry. 2016. Vol. 162. P. 366–375.
9. Fomda B. A., Khan A., Zahoor D. NDM-1 (New Delhi metallo beta lactamase-1) producing Gram-negative bacilli: emergence & clinical implications // The Indian journal of medical research. 2014 . Vol. 140(5). P. 672–678.

УДК 547-304.2, 547-327, 615.281.9

Дударев В.Г., Васендин М.И., Тихомирова О.М.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

Санкт-Петербург

Vladimir.dudarev@pharminnotech.com

СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ КОНЪЮГИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СОСТОЯЩИХ ИЗ САЛИЦИЛАНИЛИДОВ И ФУРАЦИЛИНА

Синтезированы 3 изомера гибридных молекул, содержащих фрагменты салициланилида и фурацилина, связанные через орто-, мета- и пара-положение в анилиновом фрагменте салициланилида. Установлено, что гибриды подавляют рост Staphylococcus aureus (минимальная ингибирующая концентрация от 0,24 до 3,91 мкг/мл), причем активность уменьшается в зависимости от места связывания в ряду: мета->пара->>орто-положение.

Ключевые слова: гибридные молекулы, нитрофураны, салициланилиды, антимикробная активность, Staphylococcus aureus.

Dudarev V.G., Vasendin M.I., Tikhomirova O.M.

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

St. Petersburg

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ASSAY OF CONJUGATED COMPOUNDS COMBINING SALICYLANILIDES AND NITROFURAZONE

We have been prepared 3 isomers of hybrid molecules containing salicylanilides and nitrofurazone fragments, combined at ortho-, meta-, ortho-positions of aniline fragment of salicylanilides. It was discovered that hybrids inhibit growth of Staphylococcus aureus (minimal inhibitory concentration ranged from 0,24 to 3,91 µg/mL), and activity decreased depending on bonding position in the range: meta->para->>ortho-position.

Keywords: hybrid molecules, nitrofuranes, salicylanilides, antimicrobial activity, Staphylococcus aureus.

В настоящее время в клинической практике для борьбы с возбудителями инфекционных заболеваний используются несколько нитрофурановых препаратов: нитрофурацилин (фурацилин),

нитрофурантоин (фурадонин), фуразолидон, нифуртимокс, нифурател, нифуроксазид. Однако противомикробным средствам из данной группы свойственны значительные побочные эффекты и сравнительно высокая токсичность [1, 2]. Кроме того, при химиотерапии инфекций возможно развитие резистентности к противомикробным средствам, что приводит к снижению эффективности лечения и более длительному течению заболеваний. Эти проблемы можно попытаться решить с помощью дизайна мультитаргетных лекарственных веществ комбинированного действия, которые содержат две и более разные фармакофорные части в одной молекуле. Такие фармпрепараты в литературе называют гибридами, конъюгатами, химерами или лекарствами-близнецами [3–5]. В данной работе проведен синтез гибридных соединений на основе нитрофурана и салициланилидов, которые являются известными антигельминтными средствами и также обладают активностью против бактерий и вирусов, активно исследуются как противораковые средства. Для изучения взаимосвязи структура — биологическая активность нами изучены 3 изомера таких соединений с фрагментами салициланилидов и нитрофуранового препарата фурацилина, ковалентно связанные через *орто*-, *мета*- либо *пара*-положение в анилиновом фрагменте салициланилида (рис. 1).

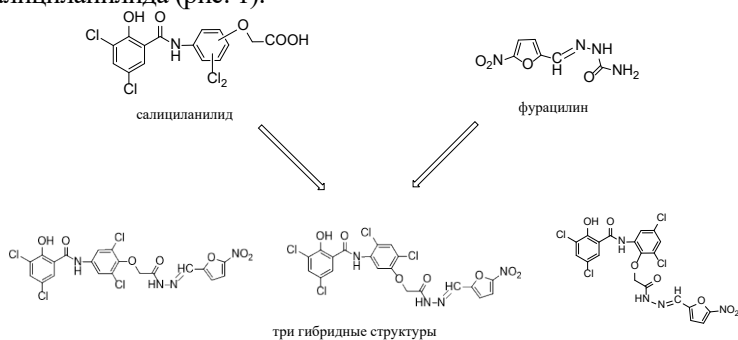


Рис. 1. Дизайн конъюгатов на основе салициланилидов и фурацилина

Синтез проведен из салициланилидов, содержащих карбоксиметильную группу, полученных ранее [6], с использованием классических методов органической химии: этерификация карбоновых кислот метанолом в присутствии

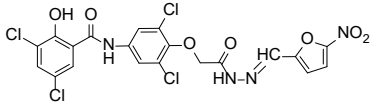
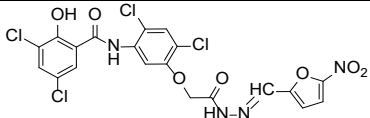
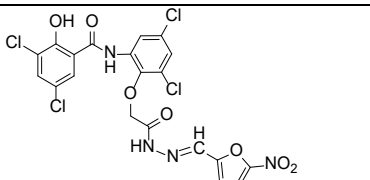
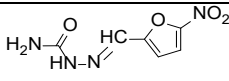
каталитического количества серной кислоты, гидразинолиз метилового эфира и синтез N-ацилгидразонов 5-нитрофуурола.

Испытания противомикробной активности были проведены *in vitro* методом двукратных серийных разведений. Были использованы следующие тест-микроорганизмы: грамположительная бактерия *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, грамотрицательные бактерии *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, а также грибы *Candida albicans* NCTC 885-653 и *Aspergillus brasiliensis* ATCC 9642. В качестве препарата сравнения был использован фурацилин.

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что полученные нами конъюгаты нитрофурана и салициланилида обладают выраженной активностью только в отношении *S. aureus* (табл. 1), хотя она и ниже, чем у фурацилина.

Таблица 1

Результаты исследования противомикробной активности синтезированных соединений

Формула соединения	Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>
	0,98	500	250	1000	2000
	0,24	500	250	1000	1000
	3,91	500	250	1000	2000
 (фурацилин)	0,12	3,91	250	500	1000

Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) в отношении этого микроорганизма заметно зависит от положения, по которому соединены две потенциально ключевые для проявления биологической активности части молекулы, причем активность уменьшается в зависимости от места связывания в ряду: *мета->пара->>орто*-положения анилинового фрагмента.

Активность полученных гибридных соединений в отношении грамотрицательных бактерий и (особенно) грибов оказалась низкой. При этом конъюгирование фурацилина с салициланилидом приводило фактически к потере его действия в отношении *E. coli* (увеличение МИК на 2 порядка).

Тем не менее получение новых химерных соединений на основе нитрофуранов и салициланилидов представляется перспективным в рамках поиска оригинальных антимикробных соединений, особенно для борьбы с грамположительными бактериями, причем при разработке дизайна молекул следует учитывать влияние взаимного расположения фрагментов на антимикробную активность.

Список литературы

1. Mohamed M.S., Elamin K.M., Alenazy R., Eltayib E. M., Idriss M. T., Alhudaib N. A. A., Elsaman T., Mohamed M. A. Synthesis, antimicrobial, and anticancer activities of novel nitrofurans derivatives// Hindawi J. Chem. 2023. doi: 10.1155/2023/1481595.
2. Hung V.V., Rakonjac L.J. Nitrofurans: revival of an «old» drug class in the fight against antibiotic resistance// PLoS Pathog. 2021. Vol. 17. e1009663. doi:10.1371/journal.ppat.1009663.
3. Rezaei S., Akbari S., Rahmani F., Varnousfaderani S. D., Gomroki S., Jafarzadeh E. Nitrofurans as potent antibacterial agents: a systematic review of literature // Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res. 2022. Vol. 10. P. 126. doi: 10.22034/ijabbr.2022.549061.1383.
4. Krasavin M., Parchinsky V., Kantin G., Manicheva O., Dogonadze M., Vinogradova T., Karge B., Brönstrup M. New nitrofurans amenable by isocyanide multicomponent chemistry are active against multidrug-resistant and poly-resistant *Mycobacterium tuberculosis* // Bioorg. Med. Chem. 2017. Vol. 25. P. 1867–1874. doi: 10.1016/j.bmc.2017.02.003.
5. Тевяшова А.Н., Олсуфьева Е.Н., Преображенская М.Н. Создание антибиотиков двойного действия как путь поиска новых

перспективных лекарственных препаратов // Успехи химии. 2015. Т. 84. №1. С. 61-97.

6. Дударев В.Г., Васендин М.И., Москвин А.В. и др. Синтез анилидов 3,5-дихлорсалициловой кислоты, содержащих карбоксиметоксигруппу в анилиновом фрагменте // Журнал общей химии. 2023. Т. 93. №12. С. 1822-1832.

УДК 614.484

Ланцова Е.А.

Тульский государственный университет

Тула

e.a.lantsova@tsu.tula.ru

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ОТЖИГА ТЕМПЛАТОВ НА
СОРБЦИОННЫЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА
ГИБРИДНОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ СИЛАНОВЫХ
ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ И ОКТЕНИДИНА
ДИГИДРОХЛОРИДА**

*Синтезирован гибридный антибактериальный материал на основе силановых предшественников, клеток дрожжей *Ogataea polymorpha* ВКМ Y-2559 и противомикробного агента — октенидина дигидрохлорида. Определена зависимость между сорбционными и десорбционными свойствами, температурой отжига и антибактериальными свойствами.*

Ключевые слова: золь-гель, антибактериальный материал, октенидин дигидрохлорид, метилтриэтоксисилан, тетраэтоксисилан.

Lantsova E. A.

Tula State University

Tula

**IMPACT OF VARYING THE TEMPERING TEMPERATURE OF
THE TEMPLATES ON THE SORPTION AND ANTIBACTERIAL
PROPERTIES OF A HYBRID MATERIAL BASED ON SILANE
PRECURSORS AND OCTENIDINE DIHYDROCHLORIDE**

*A hybrid antibacterial material was synthesised based on silane precursors, yeast *Ogataea polymorpha* ВКМ Y-2559 cells and an antimicrobial agent, octenidine dihydrochloride. The dependence between sorption and desorption properties of the material, annealing temperature and antibacterial properties was determined.*

Keywords: *sol-gel, antibacterial material, octenidine dihydrochloride, methyltriethoxysilane, tetraethoxysilane.*

Одной из мировых проблем является постоянно растущая резистентность микроорганизмов к действию антисептических агентов, что приводит к развитию инфекционных заболеваний и возникновению экономических потерь [1, 2]. Традиционный способ дезинфицирования поверхностей требует увеличенных объемов расходуемых жидких антисептиков при условии применения средств с неэффективными компонентами, что влечет за собой увеличение резистентности микроорганизмов к ряду антибактериальных средств и попаданию их в окружающую среду [3].

В настоящее время ведется поиск различных методов борьбы с микроорганизмами, которые могут быть основаны на уничтожении клеток, либо не дающие микроорганизмам закрепиться на поверхности [4–6]. Разрабатываются гибридные антисептические материалы, содержащие эффективные действующие вещества. Одним из таких соединений может являться дигидрохлорид октенидина — антисептический агент, который относится к классу четвертичных аммониевых соединений (ЧАС). Октенидин малотоксичен для человека и для окружающей среды [7], включение его в инертный загрузочный материал на основе кремнийсодержащей матрицы позволит регулировать высвобождаемое количество действующего вещества, что снизит нагрузку на экосистему и снизит развитие резистентности микроорганизмов.

Для создания загрузочной платформы возможно использовать золь-гель технологию в сочетании с применением шаблонов — например, клеток дрожжей. Кремнийсодержащие мезопористые материалы способны загружать различные молекулы, включая фармацевтические препараты, терапевтические пептиды, белки и гены [8–11]. Большой объем пор позволит эффективно загружать антисептик в наноматериал и поддерживать постоянную концентрацию высвобождаемого активного агента в течение длительного времени.

Сформирован материал на основе силановых предшественников — метилтриэтоксисилана и тетраэтоксисилана с соотношением 85/15, в качестве

порообразующих агентов использованы клетки дрожжей *Ogataea polymorpha* ВКМ У-2559. Для удаления клеток микроорганизмов произведен обжиг материала в диапазоне температур от 200 до 1200°C, после чего в матрицы загружен октенидин дигидрохлорид. Методом УФ-спектроскопии определены сорбционные и десорбционные свойства полученных материалов (рис. 1).

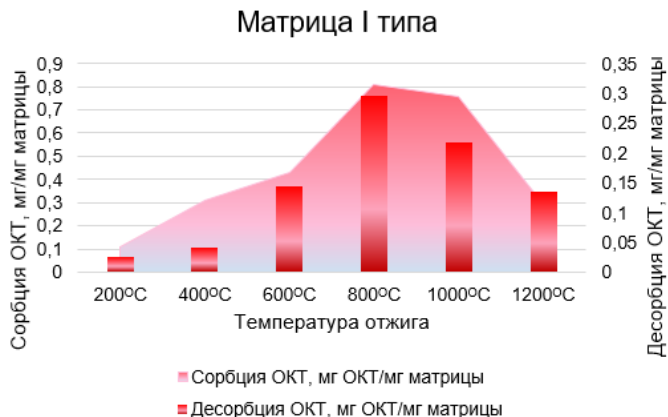


Рис. 1. Соотношение десорбированного/адсорбированного октенидина дигидрохлорида (мг/мг матрицы) в зависимости от температуры отжига

Для материала с температурой отжига 800°C наблюдается наибольшее значение как сорбированного, так и десорбированного в течение 50 разбавлений октенидина дигидрохлорида. При повышении температуры отжига до 800°C наблюдается резкий рост сорбированного и десорбированного октенидина. Дальнейшее повышение температуры неэффективно, поскольку материал характеризуется ухудшением свойств относительно пика при 800°C. Это может быть связано с изменением морфологии материала, поскольку до 600°C еще не полностью удалены клетки-шаблоны, при повышении температуры до 800°C заметно начало изменений морфологии, при температуре выше 1000°C матрица сплавляется [12].

У сформированных материалов были изучены антибактериальные свойства относительно ингибирования фитопатогенных микроорганизмов штамма *Rhodococcus fascians* Ас-1462. Для этого 1 мг порошка из сформированного гибрида наносили на чашку Петри с фитопатогенной культурой. Определена зависимость между средним диаметром зоны ингибирования роста в течение 100 дней, температурой отжига матрицы и количеством десорбированного октенидина (рис. 2).

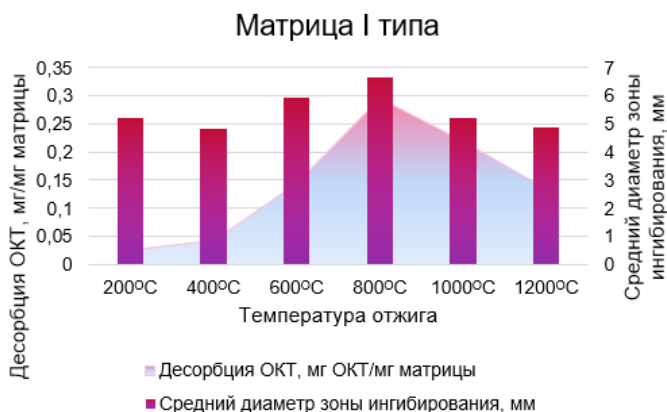


Рис. 2. Соотношения десорбированного октенидина (мг/мг матрицы) и среднего диаметра зоны ингибирования роста микроорганизмов (мм) в зависимости от температуры отжига

Сформированные материалы сохраняют антимикробные свойства по отношению к фитопатогенным бактериям *Rhodococcus fascians* ВКМ Ас-1462 в течение длительного времени (100 дней). Наиболее эффективное ингибирование роста бактерий наблюдается у материалов с температурой отжига 800°C, поскольку они обладают одними из лучших значений десорбции/сорбции октенидина дигидрохлорида. Наиболее эффективной температурой отжига кремнийсодержащего материала с применением клеток дрожжей является 800°C. Такая температура позволяет добиться наибольших значений сорбции и десорбции антибактериального агента — октенидина дигидрохлорида, а также наибольшей зоны лизиса бактерий-фитопатогенов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ, РНФ № 23-23-00410, <https://rscf.ru/project/23-23-00410>.

Список литературы

1. Cillóniz C., Dominedò C., Torres A. Multidrug resistant gram-negative bacteria in community-acquired pneumonia // *Annu. Updat. Intensive Care Emerg. Med.* 2019. Springer, 2019. P. 459–475.
2. Murray C.J.L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // *Lancet.* Elsevier, 2022. Vol. 399, № 10325. P. 629–655.
3. Hora P.I. et al. Increased Use of Quaternary Ammonium Compounds during the SARS-CoV-2 Pandemic and Beyond: Consideration of Environmental Implications // *Environ. Sci. Technol. Lett.* American Chemical Society, 2020. Vol. 7, № 9. P. 622–631.
4. Li X. et al. A nanostructured anti-biofilm surface widens the efficacy against spindle-shaped and chain-forming rod-like bacteria // *Nanoscale.* The Royal Society of Chemistry, 2020. Vol. 12, № 36. P. 18864–18874.
5. Rahmah M.I., Sabry R.S., Aziz W.J. Preparation and Antibacterial Activity of Superhydrophobic Modified ZnO/PVC Nanocomposite // *J. Bionic Eng.* 2022. Vol. 19, № 1. P. 139–154.
6. Zhong X. et al. One-pot self-assembly strategy to prepare mesoporous silica-based nanocomposites with enhanced and long-term antibacterial performance // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2022. Vol. 650. P. 129654.
7. Родин А.В. Выбор местного антисептика для лечения и профилактики раневой инфекции // *Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия. Общество с ограниченной ответственностью «ГРУППА РЕМЕДИУМ»*, 2019. № 3–4. С. 44–54.
8. Nguyen N.H. et al. Non-ionic surfactants As co-templates to control the mesopore diameter of hollow mesoporous silica nanoparticles for drug delivery applications // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2022. Vol. 655. P. 130218.
9. Vazquez N.I. et al. Synthesis of mesoporous silica nanoparticles by solgel as nanocontainer for future drug delivery applications // *Boletín la Soc. Española Cerámica y Vidr.* 2017. Vol. 56, № 3. P. 139–145.
10. Tenland E. et al. Effective delivery of the anti-mycobacterial peptide NZX in mesoporous silica nanoparticles // *PLoS One.* 2019. Vol. 14, № 2.

11. Ai F. et al. Facile synthesis of cetyltrimethylammonium bromide-loaded mesoporous silica nanoparticles for efficient inhibition of hepatocellular carcinoma cell proliferation // Mater. Res. Express. IOP Publishing, 2020. Vol. 7, № 8. P. 85008.

12. Ланцова Е.А. Изучение структуры биогибридного золь-гель материала методом сканирующей электронной микроскопии // Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции «XXIV Всероссийское совещание по неорганическим и органосиликатным покрытиям». 2023. С. 65–66.

УДК 544.77.022.533

Лисовский Д.С., Дмитриева И.Б.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

Санкт-Петербург

lisovskij.dmitrij@pharminnotech.com;

irina.dmitrieva@pharminnotech.com

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ И ИОННОЙ СИЛЫ НА СРЕДНИЙ РАЗМЕР ЛИПОСОМ ИЗ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА

В работе изучено влияние ионной силы, pH среды, способа гидратации липидной плёнки на средний размер получаемых липосом и поверхностный ζ-потенциал частиц.

Ключевые слова: *фосфатидилхолин, липосомы, устойчивость липосом, изоэлектрическая точка, высаливание.*

Lisovsky D.S., Dmitrieva I.B.

St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University

St. Petersburg

INFLUENCE OF ACIDITY AND IONIC STRENGTH TO AVERAGE SIZES OF PHOSPHATIDYLCHOLINE LIPOSOMES

The influence of pH, ionic strength and hydration method to phosphatidylcholine liposome properties (such as average particle size, surface ζ-potential) in aqueous solutions was determined.

Keywords: *phosphatidylcholine, liposomes, stability of liposomes, isoelectric point, salinization effect.*

Введение. Липосомами называют везикулы (пузырьки), состоящие из concentрических самозамкнутых бислоев,

составленных из молекул липидов. Внутреннее содержимое липосом имеет полость, содержащую растворитель и изолированную от внешней среды. Благодаря наличию этой полости в липосомах возможно сохранение веществ в относительно неизменном виде при изменяющихся внешних условиях.

Липосомы нашли широкое применение в медицине, косметике, пищевой промышленности [1]. На сегодняшний день создан ряд липосомальных лекарственных форм, преимущественно для терапии раковых заболеваний [2].

Материалом для синтеза липосом служат липиды, представляющие собой поверхностно-активные вещества, содержащие в составе заряженную полярную головку и гидрофобный хвостик [3, 4]. В водных растворах, а равно и в растворах полярных растворителей, молекулы липидов способны самоорганизовываться в мембраны, при этом полярные головки будут находиться на поверхности мембраны, а гидрофобные хвосты внутри мембраны. Такие мембраны способны замыкаться в сферические пузырьки, называемые липосомами.

Липосомы являются биосовместимыми объектами, так как они построены из того же набора липидов, что и клеточные мембраны в организме. Этот набор липидов включает в себя фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилсерин, фосфатидилцистеин, фосфатидилинозитол, а также небольшую добавку неполярного холестерина для придания мембране необходимых механических свойств и проницаемости [3]. Наиболее распространенным липидом в составе бислоев является фосфатидилхолин.

Целью исследования является изучение физико-химических параметров липидных наночастиц, полученных из фосфатидилхолина и их корреляция при изменении внешних условий: pH, ионной силы, концентрации липида и способа его гидратации.

Ранее авторами проводились исследования свойств получаемых наночастиц (липосом) из соевого лецитина, основным компонентом которого является фосфатидилхолин [5–7].

Материалы и методы. В качестве объекта исследовались липидные наночастицы, полученные при гидратации

фосфатидилхолина растворами электролита. В исследовании использовался фосфатидилхолин LIPOID S 100, производства LIPOID GMBH, Германия, с заявленным содержанием фосфатидилхолина не менее 97.0%.

Приготовление рабочих растворов осуществляли путём растворения навески фосфолипида в дистиллированной воде, либо растворе электролита при интенсивном перемешивании. Растворение, разбавления растворов и измерения проводили при температуре (20...21)°С. В работе использовали дистиллированную воду проводимостью не более 1.0 мкСм/см.

Для приготовления растворов с заданным рН растворение навески фосфолипида проводили в электролите — 1 mM растворе KCl для нивелирования влияния ионной силы на размеры и потенциал наночастиц. Доведение рН растворов до нужного значения проводили добавлением по каплям 0.1 М соляной кислоты, либо 0.1 М гидроксида натрия при перемешивании, после чего выдерживали раствор до стабилизации рН в течение 30 минут. Контроль рН растворов проводили потенциометрически, с использованием рН-метра Mettler Toledo F-20, Великобритания. Использованные реактивы (хлорид калия, соляная кислота и гидроксид натрия) квалификации Х.Ч., производства АО «ВЕКТОН», Россия.

Критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ) определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-2000. Измерения проводили для растворов с содержанием фосфатидилхолина 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,04, 0,08%, полученных методом последовательного разбавления исходного 0.16% раствора. Проводили 4 серии экспериментов — для раствора липида в дистиллированной воде и для растворов липида в электролите KCl, поддерживая рН 2, рН 3, рН 4.

Для приготовления растворов методом гидратации тонких плёнок навеску фосфатидилхолина растворяли с этилацетате, затем упаривали растворитель досуха в круглодонной колбе с использованием роторного-плёночного испарителя ИКА RV 10 basic при температуре 60°С и остаточном давлении 50 мм. рт. ст. В колбу с фосфолипидом, нанесённым на стенки, далее добавляли тёплую дистиллированную воду, помещали на водяную баню и проводили гидратацию при слабом перемешивании в течение 1,5-2 часов, поддерживая температуру (45...50)°С.

Средний размер частиц определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-2000 с использованием эмпирических уравнений Геллера для обработки результатов.

Изоэлектрическую точку (ИЭТ) определяли с использованием прибора Zetasizer Nano, производства Malvern, Великобритания.

Результаты и обсуждение. В табл. 1 показаны значения критических концентраций мицеллообразования для фосфатидилхолина в воде, и в растворах с рН 2, рН 3, рН 4.

Таблица 1

Критические концентрации мицеллообразования (ККМ) для растворов фосфатидилхолина в 1 mM KCl с заданным рН и в воде

рН раствора	ККМ, % масс.
рН 2	0,021±0,004
рН 3	0,019±0,004
рН 4	0,020±0,004
Вода	0,024±0,004

Значения ККМ для фосфатидилхолина в пределах погрешности совпадает как для раствора в дистиллированной воде, так и для растворов с различным рН и составляет 0,02±0,004 % масс., или $(2.54-2.63) \cdot 10^{-4}$ моль/л, при средней молекулярной массе фосфатидилхолина от 760 до 786 г/моль [6].

На рис. 1. изображена зависимость электрокинетического потенциала фосфатидилхолина от рН дисперсионной среды.

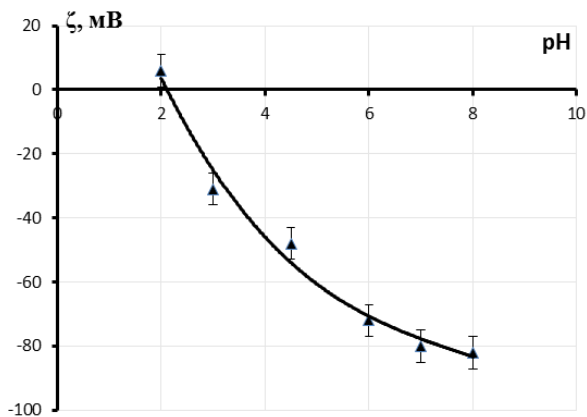


Рис. 1. Зависимость ζ -потенциала наночастиц фосфатидилхолина от pH растворов

Как следует из рис. 1, значения ζ -потенциала в области $\text{pH} > 2,2$ отрицательные и увеличиваются по абсолютной величине с ростом pH. Изоэлектрическая точка (ИЭТ), соответствующая значению потенциала, равному нулю, находится в области $\text{pH } 2,2 \pm 0,2$. Изоэлектрическая точка лежит в сильнокислой области из-за наличия в молекуле фосфатидилхолина сильнокислотной группы — остатка фосфорной кислоты.

Положительные значения ζ -потенциала в сильнокислой области свидетельствуют о нахождении остатка фосфорной кислоты в ассоциированной форме, при этом положительный заряд поверхности наночастицы придают остатки четвертичной аминогруппы в холиновом фрагменте.

Растворы, имеющие $\text{pH } 2$ и $\text{pH } 3$ — близко к ИЭТ — показали низкую агрегационную и седиментационную устойчивость, во-первых, из-за низкого (по модулю) значения ζ -потенциала, что уменьшает силы отталкивания между частицами в растворе, во-вторых, из-за большой ионной силы раствора, что способствует ассоциации молекул слабого электролита и приводит к тому же уменьшению заряда.

Сравнение средних размеров частиц в растворах, полученных различными методами гидратации фосфолипида, показало увеличение среднего размера частиц в растворах, полученных методом регидратации тонкой плёнки по сравнению с растворами,

полученными простым растворением фосфатидилхолина в воде, что показано в табл. 2. В растворах фосфатидилхолина, полученных методом регидратации тонкой плёнки, наблюдается фракция очень крупных везикул, видимых в оптический микроскоп.

Таблица 2

Сравнение средних размеров частиц фосфатидилхолина в растворах, приготовленных различными методами

Средний размер частиц, нм	Простое растворение	Метод регидратации тонкой плёнки
0,16%	51±5	136±9

Для изучения устойчивости полученных липосом растворы, полученные методом регидратации тонкой пленки, были разбавлены до концентрации, ниже ККМ (табл. 3).

Таблица 3

Сравнение средних размеров частиц в растворах, полученных методом регидратации тонких плёнок до и после разбавления ниже ККМ

Средний размер частиц, нм	Исходный раствор	Разбавленный раствор (0,01% масс.)
0,16%	136±9	80±8

Установлено, что после разбавления в растворах сохраняется фракция крупных везикул в течение минимум 60 минут, при этом, средние размеры частиц в растворах меняются незначительно. При проведении аналогичного эксперимента с растворами фосфатидилхолина, полученными простым растворением, разрушение крупных частиц происходит практически сразу же после разбавления. Это свидетельствует об относительной устойчивости липосом в области концентраций ниже ККМ.

Результаты измерения ζ -потенциала и расчёта среднего размера частиц для растворов лецитина с различной ионной силой приведены в табл. 4.

Таблица 4

Значения ζ -потенциалов и средних размеров частиц в 0.16% растворах фосфатидилхолина при различной ионной силе

Ионная сила раствора, моль/л	10^{-5}	10^{-3}	10^{-1}
ζ -потенциал, мВ	-39 ± 3	-31 ± 4	-25 ± 6
Средний размер частиц, нм	67 ± 5	88 ± 7	147 ± 10

Уменьшение ζ -потенциала происходит вследствие сжатия диффузной части двойного электрического слоя с увеличением концентрации индифферентного электролита. Увеличение среднего размера частиц с ростом ионной силы также можно объяснить высаливающим действием электролита: с уменьшением поверхностного заряда уменьшаются силы отталкивания между отдельными частицами, что приводит к их слиянию в более крупные агрегаты.

Заключение

1. Установлено, что значение ККМ для частиц фосфатидилхолина в пределах погрешности в кислой и нейтральной области не зависит от значения pH и составляет $0,021 \pm 0,004\%$.

2. Определена ИЭТ для липосом на основе фосфатидилхолина находится в области pH 2.2 ± 0.2 .

3. Показано, что наиболее крупные липосомы получаются методом регидратации.

4. Обнаружено, что с увеличением ионной силы дисперсий фосфатидилхолина увеличивается размер частиц вследствие уменьшения сил отталкивания между отдельными частицами.

Список литературы

1. Липосомы / Е.И. Могилевич, Н.В. Бирюкова, О.В. Нестерова, Н.В. Нестерова // Образование и наука в современных реалиях: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, Чебоксары, 01 июня 2022 года. Чебоксары: Общество с ограниченной ответственностью «Центр научного сотрудничества «Интерактив плюс», 2022. С. 9-12. doi: 10.21661/r-556830. EDN PZERVN.

2. Peng Liu, Guiliang Chen, Jingchen Z. A Review of Liposomes as a Drug Delivery System: Current Status of Approved Products,

Regulatory Environments, and Future Perspectives // *Molecules*. 2022. Vol. 27. P. 1– 23, 10.3390 / molecules27041372. doi: 10.3390/molecules27041372.

3. Hamdi Nsairat, Dima Khater, Usama Sayed et al. Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications // *Heliyon*. 2022. V. 8, I. 5, 10.1016 / j.heliyon.2022.e09394. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09394.

5. Шерстнев В.В., Чухно А.С., Попов А.С., Иванова И.С., Сучкова К.М., Востряков Е.В. Физико-химические свойства модифицированного бычьего сывороточного альбумина: влияние условий гелеобразования на изоэлектрическую точку и реологию. *Бутлеровские сообщения С.* 2024 Т.8. С.90–102. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-90.

6. Лисовский Д.С., Дмитриева И.Б. Влияние физико-химических факторов на средний размер липидных наночастиц соевого лецитина в водных растворах. *Бутлеровские сообщения С.* 2024. Т.8. №3. Id.12. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-116/ROI-jbc-RC/24-8-3-12.

7. Dimitry S. Lisovsky, Irina B. Dmitrieva. Influence of physical-chemical factors to soybean lecithin lipid nanoparticles average size in aqueous systems. *Butlerov Communications С.* 2024. Vol.8. No.3. Id.12. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-116/ROI-jbc-C/24-8-3-12.

8. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 96th edition, 2015-2016.

УДК 54-383

**Мишин П.И.¹, Михеев А.В.², Трушина Д.Б.², Букреева Т.В.²,
Балабушевич Н.Г.¹**

¹Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова, химический факультет

²Курчатовский комплекс кристаллографии и фотоники
Национального исследовательского центра «Курчатовский
институт»

Москва

pmishin2005@gmail.com

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУБМИКРОННЫХ И МИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ВАТЕРИТА ДЛЯ ВКЛЮЧЕНИЯ КАТАЛАЗЫ И ХИМОТРИПСИНА

Полученные методом спонтанной кристаллизации в присутствии этиленгликоля, наночастицы ватерита характеризуются отличной от микрочастиц морфологией. При включении каталазы и химотрипсина показано различие в сохранении активности и содержании ферментов в нано- и микрочастицах.

Ключевые слова: карбонат кальция, ватерит, доставка лекарств, активность фермента.

**Mishin P.I.¹, Mikheev A.V.², Trushina D.B.², Bukreeva T.V.²,
Balabushevich N.G.¹**

¹Moscow State University, Faculty of Chemistry

²NRC Kurchatov Institute

Moscow

USE OF SUBMICRON AND MICRON VATERITE PARTICLES TO INCORPORATE CATALASE AND CHEMOTRYPSIN

Obtained by spontaneous crystallization in the presence of ethylene glycol, vaterite nanoparticles are characterized by a morphology different from microparticles. When catalase and chymotrypsin are included, a difference in the preservation of activity and content of enzymes in nano- and microparticles is shown.

Keywords: calcium carbonate, vaterite, drug delivery, enzyme activity.

На сегодняшний день актуальной задачей медицины является инкапсулирование биологически активных веществ. Данная методика позволяет защитить вещества от неблагоприятных воздействий и обеспечить их пролонгированное высвобождение.

Таким образом, увеличивается биодоступность лекарственных препаратов и уменьшается частота их введения. Среди широкого спектра систем доставки одной из наиболее перспективных является полиморфная модификация карбоната кальция — ватерит. Биосовместимость, биodeградируемость, пористость и структура сферических кристаллов ватерита определяют его использование в качестве матрицы для доставки лекарственных веществ [1, 2]. Поскольку биомедицинское применение систем обуславливается их физико-химическими характеристиками, контроль данных параметров является важной задачей. Свойства ватерита легко регулируются изменением условий синтеза. В частности, диаметр частиц можно варьировать от 400 нм [3] до 50 мкм [4]. Для введения ватерита в организм, наиболее многообещающим является использование наноразмерных частиц. В отличие от микро-, наночастицы ватерита имеют иную морфологию и представляются более перспективными для использования при лечении различных заболеваний [1, 2, 5].

Антиоксидантный фермент каталаза широко используется в качестве основного модельного фермента с известным механизмом загрузки в частицы ватерита [6], а адсорбированный на неорганические носители протеолитический фермент химотрипсин находит применение в области биотехнологии, биохимии и медицине, а также при доставке лекарств [7].

Цель работы состояла в синтезе нано- и микрочастиц ватерита (НАНО-СС и МИКРО-СС соответственно) и сравнении содержания и активности включенных ферментов химотрипсина и каталазы.

Частицы карбоната кальция получали методом спонтанной кристаллизации путем сливания растворов солей CaCl_2 и Na_2CO_3 , микроразмерные кальций-карбонатные носители синтезировали путем смешивания водных растворов солей [8], а наноразмерные — в присутствии этиленгликоля [9]. Для характеристики полученных сфер были использованы методы сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), рентгенофазового анализа (РФА), динамического и

электрофоретического рассеяния (ДРС и ЭРС), а также анализ адсорбции-десорбции азота по БЭТ. Активность включенных ферментов измеряли спектрофотометрически: для каталазы по убыли H_2O_2 , а для химотрипсина по N-бензоил-L-тирозин р-нитроанилиду (БТПНА).

Ферменты были включены двумя способами: адсорбцией на сформированные частицы и соосаждением в процессе синтеза (рис. 1).

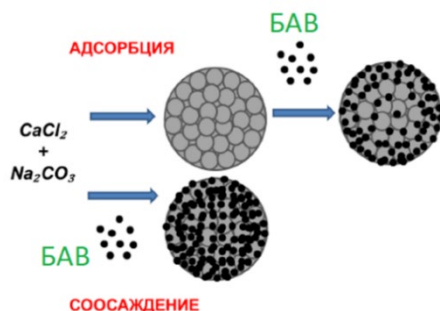


Рис. 1. Способы включения биологически активных веществ в наночастицы ватерита

Средний выход МИКРО-СС составлял около 95%, а НАНО-СС — около 68%. Площадь поверхности была близка у обоих типов частиц и составляла около $12 \text{ м}^2/\text{г}$, однако размер пор у наночастиц был втрое больше, чем для микро- и составлял 154 \AA . Использование этиленгликоля ведет к уменьшению размеров частиц и увеличению диаметра пор. Данный результат связан с увеличением центров кристаллизации в результате электростатического взаимодействия ионов Ca^{2+} и OH-групп этиленгликоля, а также уменьшения диффузии Ca^{2+} - и CO_3^{2-} -ионов в реакционной смеси.

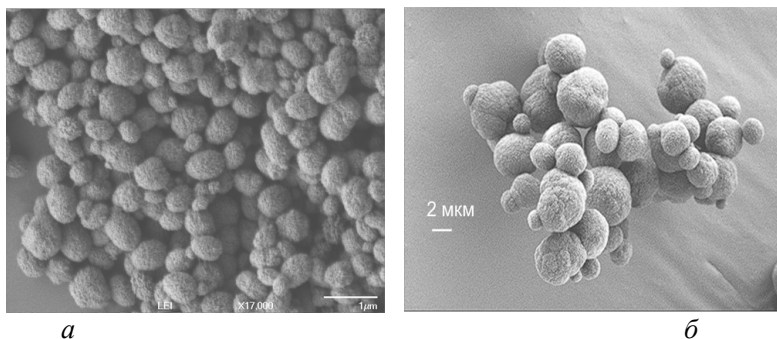


Рис. 2. СЭМ образцов ватерита, НАНО-СС (а), МИКРО-СС (б)

По анализу изотерм адсорбции-десорбции азота по БЭТ показано наличие петли гистерезиса, свидетельствующей о мезопористости обоих образцов и о наличии капиллярной конденсации жидкого азота в мезопорах.

При изучении активности включенных ферментов было выявлено уменьшение активности при соосаждении в наночастицы ватерита каталазы на 80%, а химотрипсина — на 50%, что объясняется взаимодействием ферментов с присутствующим в реакционной среде этиленгликолем. В дальнейшем изучено влияние добавляемой при адсорбции каталазы на содержание в наночастицах и на ее активность (рис. 3).

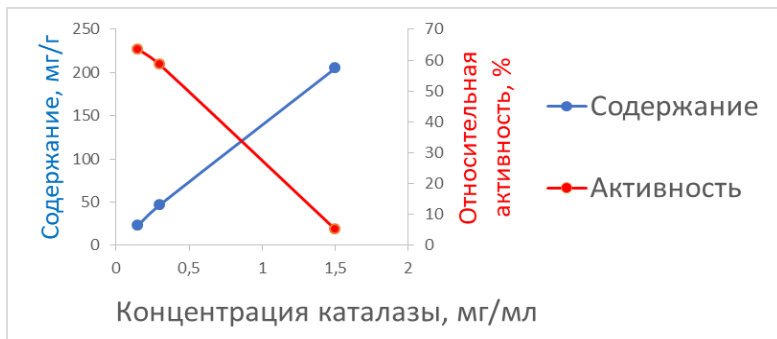


Рис. 3. Зависимость содержания и сохранения активности адсорбированной в наночастицы каталазы от концентрации фермента

Показано, что при увеличении концентрации добавляемой при адсорбции каталазы увеличивается ее содержание в частицах, но уменьшается активность фермента, что связано с увеличением влияния диффузионных факторов при протекании ферментативной реакции. Для ее протекания необходимо, чтобы субстрат проник в поры частиц, а продукт реакции вышел в окружающий раствор. С увеличением концентрации фермента в частицах увеличивается влияние диффузионных факторов. При этом реальная скорость ферментативной реакции может оказаться меньше потенциально возможной, так как в результате диффузионного торможения почти весь субстрат может расщепляться приповерхностными слоями фермента, а области в порах будут обеднены субстратом. Увеличение удельной активности каталазы при уменьшении количества внутри частиц, по-видимому, связано с переводом реакции из диффузионного режима в кинетический.

Для сравнения включения ферментов в микро- и наночастицы и сохранения их активности была выбрана оптимальная концентрация, равная 0,15 мг/мл. Так, результаты сравнения приведены в табл. 2.

Таблица 2. Эффективность включения и активность каталазы и химотрипсина, адсорбированных на микро- и наночастицы.

Фермент/частицы		НАНО-СС	МИКРО-СС
Каталаза	Содержание, мг/г	29,2±0,8	22,8±0,6
	Относительная активность, %	77±10	64±9
Химотрипсин	Содержание, мг/г	34,1±0,8	27,5±0,7
	Относительная активность, %	52±7	46±7

Так, показано, что этандиол снижает активность ферментов при их включении в наночастицы ватерита соосаждением. При адсорбции каталазы и химотрипсина в наночастицы ватерита, как и при адсорбции в микрочастицы ватерита, показано высокой сохранение активности ферментов, зависящее от их содержания в препаратах.

Таким образом, наночастицы ватерита имеют преимущество над микрочастицами как по критерию содержания ферментов в частицах, так и по сохранению их активности.

Список литературы

1. Jia L., Kong F., Ma X. Role of aspartic acid in the synthesis of spherical vaterite by the $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{CO}_2$ reaction // *Cryst. Growth Des.* 2016. №16. С 728–736.
2. Synthesis of template-free hollow vaterite CaCO_3 microspheres in the $\text{H}_2\text{O}/\text{EG}$ system / Zhao D. [и др.] // *Mater. Lett.* 2013. № 104. С. 28–30.
3. Dependence of Sub-Micron Vaterite Container Release Properties on pH and Ionic Strength of the Surrounding Solution/ Parakhonskiy B. [и др.] // *Advances in Science and Technology.* 2012. 11 Sept.
4. Chiral acidic amino acids induce chiral hierarchical structure in calcium carbonate / Jiang W. [и др.] // *Nat Commun.* 2017. №8. С. 15066
5. Microwave-assisted synthesis of spheroidal vaterite CaCO_3 in ethylene glycol-water mixed solvents without surfactants / Chen Y. [и др.] // *J. Cryst. Growth.* 2010. № 312. С. 3191–3197
6. The mechanism of catalase loading into porous vaterite CaCO_3 crystals by co-synthesis / Vikulina A. [и др.] // *Phys.Chem.Chem.Phys.* 2018. №20. С.8822
7. Volodkin D., Larionova N., Sukhorukov G. Protein encapsulation via porous CaCO_3 microparticles templating // *Biomacromolecules.* 2004. № 5. С. 1962–1972.
8. Trushina D., Bukreeva T., Antipina M. Size-Controlled synthesis of vaterite calcium carbonate by the mixing method: aiming for nanosized particles // *Cryst. Growth Des.* 2016. №16. С 1311-1319
9. Hybrid CaCO_3 -mucin crystals: effective approach for loading and controlled release of cationic drugs / Balabushevich N.G. [и др.] // *Materials and Design.* 2019. № 182. С. 1-12.

Перцева В.А., Ланцова Е.А.

Тулский государственный университет

Тула

violpertz@mail.ru, e.a.lantsova@tsu.tula.ru

**ИЗУЧЕНИЕ PH-ЗАВИСИМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ
ОКТЕНИДИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ НОВОГО ВИДА
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ**

Рассматривается загрузочная способность кремнийорганической матрицы, сформированной на основе тетраэтоксисилана и метилтриэтоксисилана и микроорганизмов как шаблонов для загрузки октенидина дигидрохлорида, а также определяется его десорбция в раствор при изменении значения pH среды.

Ключевые слова: *антисептическое средство, четвертичные аммониевые соединения, дигидрохлорид октенидина, резистентность микроорганизмов, золь-гель технология, кремнийорганический материал, иммобилизация микроорганизмов.*

Pertseva V.A., Lantsova E.A.

Tula State University

Tula

**THE STUDY OF THE PH-DEPENDENT RELEASE OF
OCTENIDINE IN THE FORMATION OF A NEW TYPE OF
ANTIBACTERIAL SURFACES**

This article examines the loading capacity of an organosilicon matrix formed on the basis of tetraethoxysilane and methyltriethoxysilane and microorganisms as template for sorption of octenidine dihydrochloride, and also determines its desorption into solution when the pH value of the medium changes.

Keywords: *antiseptic, quaternary ammonium compounds, octenidine dihydrochloride, resistance of microorganisms, sol-gel technology, organosilicon material, immobilization of microorganisms.*

Одной из волнующих мировых проблем в настоящее время является развитие резистентности микроорганизмов к антисептическим препаратам, связанное с их чрезмерным

использованием, которое впоследствии приводит к загрязнению почв и грунтовых вод под действием токсичных компонентов, находящихся в составе [1]. И поэтому важна разработка химически стабильных и малотоксичных как для человека, так и для окружающей среды антисептических средств, направленных на предотвращение устойчивости к ним патогенных микроорганизмов и биообрастания различных поверхностей, тем самым повышая эффективность дезинфекции.

Для решения этой задачи в качестве антисептического агента подходят четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), они обладают такими преимуществами, как остаточным бактериостатическим действием на обрабатываемых поверхностях и слабой коррозионной активностью, хорошей растворимостью в водной среде, бесцветностью, а также они не имеют специфического запаха, устойчивы в широком диапазоне рН и при повышенных температурах, толерантны к присутствию органических веществ [2].

Одним из примеров ЧАС, используемых в медицинской практике, является дигидрохлорид октенидина. Он представляет собой катионное поверхностно-активное антимикробное соединение, которое содержит два не взаимодействующих между собой катионных активных центра, разделенных длинной алифатической углеводородной цепью. В результате этого молекула легко связывается с отрицательно заряженными поверхностями, такими как микробная клетка, стенки и мембраны эукариотических клеток. При прикреплении к микроорганизму октенидин взаимодействует с полисахаридами в клеточной стенке и цитоплазматическими бактериальными ферментными системами, что приводит к разрушению цитоплазматической мембраны и гибели клеток [3].

Благодаря наличию неспецифического механизма активации, выраженной адсорбции на клеточной стенке и мембранах октенидин обладает широким спектром антимикробной активности, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, хламидии, микоплазмы и грибы, а также [4] риск формирования биопленок и резистентности у микроорганизмов крайне низкий [5]. Стоит отметить, что для большей эффективности применения антибактериальных агентов, их

следует инкапсулировать в пористый материал, например, в золь-гель.

Золь-гель технология широко применяется в электротехнике, биотехнологии, химии и медицине. Это доступный метод, основанный на способности формировать металл-оксидные, кремниевые и органосилоксановые матрицы, размер пор и стабильность наночастиц которых определяется природой кремнийорганических прекурсоров и их соотношением. Для образования пористой структуры материалов часто применяют молекулы-шаблоны, альтернативой им могут служить клетки микроорганизмов, которые затем удаляют с помощью отжига или с использованием растворителей. Тем самым мезопористые материалы на основе кремнезема, обладая универсальной и настраиваемой структурой, способны загружать различные молекулы, включая фармацевтические препараты, терапевтические пептиды, белки и гены [6].

В данном исследовании был сформирован гибридный материал на основе соотношения тетраэтоксисилана (ТЭОС) и метилтриэтоксисилана (МТЭС) 15 об. % / 85 об. %, поливинилового спирта в присутствии смеси клеток дрожжей *Ogataea polymorpha* ВКМ У-2559 и бактерий *Paracoccus yeei* ВКМ В-3302, с последующим отжигом матрицы при 800°C. Для оценки грузочной способности и высвобождения октенидина дигидрохлорида (ОКТ) из полученных пористых кремнийсодержащих материалов был использован метод УФ-спектроскопии.

Для изучения структуры сформированной матрицы был применён метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). На полученных снимках (рис. 1) величина бар-метки составляет 10 мкм.

В матрице без отжига присутствуют частицы различного размера, которые, вероятно, представляют собой инкапсулированные клетки микроорганизмов, покрытые золь-гелем (размер 1–3 мкм) и более мелкие частицы, которые являются кремнийсодержащей матрицей. При отжиге частицы на поверхности материала приобретают неправильную геометрическую форму, происходит их укрупнение, что может быть связано с температурой Таммана (для SiO₂ материалов составляет ~759 °C) [7].

При такой температуре атомы в кристаллической решетке твердого материала становятся подвижными, более легко диффундируют и становятся подверженными агломерации, рекристаллизации или спеканию.

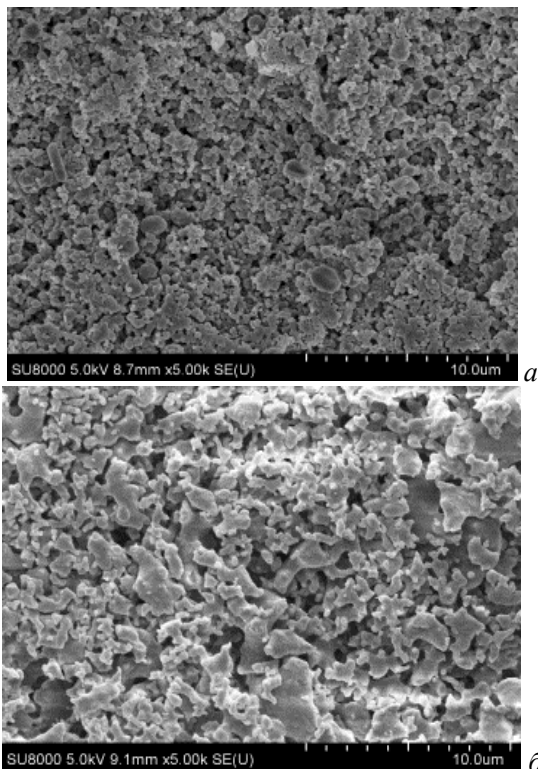


Рис. 1. СЭМ-изображения сформированных кремнийсодержащих материалов: *a* — без отжига; *б* — с отжигом при 800 °С

Далее сформированная кремнийсодержащая матрица использовалась в качестве загрузочной платформы для октенидина дигидрохлорида. Его адсорбция была определена с помощью УФ-спектроскопии относительно дистиллированной воды при длине волны 280 нм (соответствующей максимальному значению оптической плотности определяемого ОКТ). Для этого

была измерена серия растворов октенидина с различной концентрацией и построен градуировочный график (рис. 2).

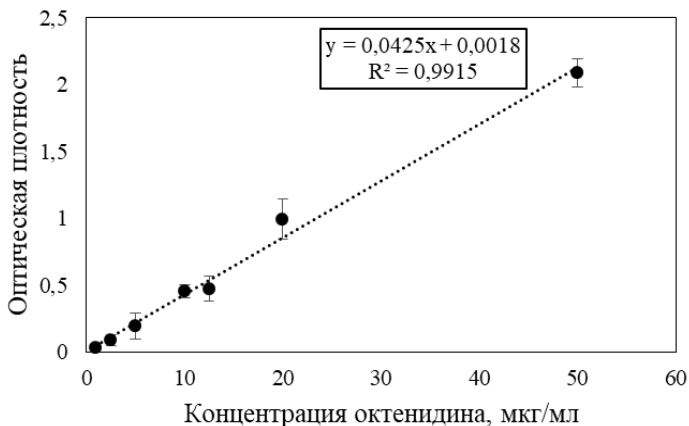


Рис. 2. Градуировочная зависимость оптической плотности от концентрации октенидина

Установлено, что 1 мг матрицы способен адсорбировать 0,7415 мг октенидина. Затем был проведен эксперимент по определению высвобождения октенидина из материала (рис. 3) путем постоянного разбавления новыми порциями дистиллированной воды (время приведено без учета промежутков между днями измерений).

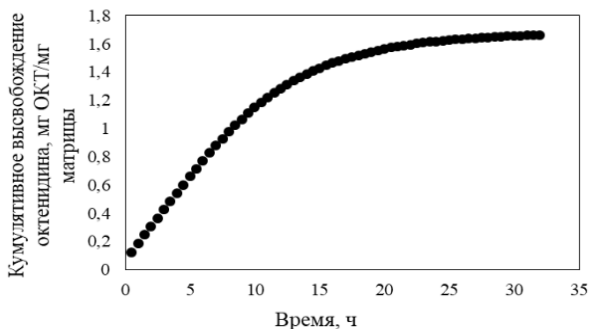


Рис. 3. График зависимости высвобождения октенидина из кремнийсодержащей матрицы в раствор дистиллированной воды от времени

В кривой высвобождения можно выделить две стадии: на первом этапе происходит десорбция большого количества октенидина, который адсорбировался на поверхности материала. Затем наступает фаза пролонгированного высвобождения, в течение которой десорбируется октенидин, загруженный в поры внутри материала. Общее количество десорбированного октенидина составило 0,2506 мг на 1 мг матрицы.

Также был проведен ряд экспериментов по возможной pH-зависимой десорбции октенидина из сформированного материала при изменении значений pH растворов от 2 до 11 по методу УФ-спектроскопии (рис. 4).

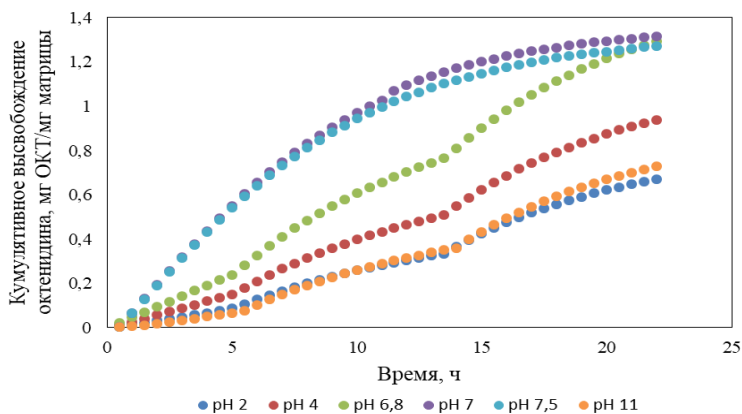


Рис. 4. Градуировочная зависимость высвобождения октенидина из кремнийсодержащей матрицы при изменении pH растворов от времени

По графику видно, что наиболее быстрое высвобождение октенидина из матрицы происходит при pH=7, немного медленнее при pH=7,5. При данных pH активное высвобождение снижается после 10 часов — заканчивается фаза быстрой десорбции вещества с поверхности материала, после чего происходит замедленное высвобождение. Для иных значений pH (2; 4; 6,8; 11) высвобождение происходит скачками: примерно в 5,5 часов начинается ускорение с постепенным снижением, затем тоже самое происходит примерно в 14 часов. Это связано с перерывами между экспериментами, во время которых

происходила постепенная десорбция октенидина из матриц, пока в системе не возникало равновесие. Резкое изменение значений высвобождения не характерно при pH 7 и 7,5, что говорит о более контролируемом характере высвобождения, который зависит не от времени, а от количества разбавлений.

Из полученных данных следует, что использование дигидрохлорида октенидина, инкапсулированного в кремнийорганический материал, позволяет добиться продолжительного и контролируемого его высвобождения, влияющего на снижение развития резистентности микроорганизмов и загрязнения окружающей среды. Таким образом, сформированная загрузочная матрица с температурой отжига 800°C обладает потенциалом для дальнейших исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания по теме: «Химическая, биологическая и наноструктурная модификация функциональных материалов как стратегия борьбы, изучения свойств и подходов к практическому использованию микробных биопленок» (FEWG-2024-0004).

Список литературы

1. Чурюкина С.В. Комплексная оценка воздействия на окружающую среду средств защиты от COVID-19 // Молодой ученый. 2021. № 4. 67 с.
2. Амелин В.Г., Майя М., Большаков Д.С. Микроэкстракционно-цветометрическое определение четвертичных аммониевых соединений в лекарственных и дезинфицирующих средствах // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. 2021. Т. 62. №2. 121 с.
3. Assadian O. Octenidine dihydrochloride: chemical characteristics and antimicrobial properties // J. Wound Care. 2016. 25(3 Suppl). P. 3-6.
4. Koburger T., Hübner N.O., Braun M., Siebert J., Kramer A. Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, PVP-iodine, octenidine dihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidine digluconate // J Antimicrob Chemother. 2010. 65(8). P. 1712-1719.
5. Wiegand C., Abel M., Ruth P., Hipler U.C. Analysis of the adaptation capacity of *Staphylococcus aureus* to commonly used

antiseptics by microplate laser nephelometry // *Skin Pharmacol Physiol*. 2012. 25(6). P. 288-297.

6. Kwon S., Singh R.K., Perez R.A., Abou Neel E.A., Kim H.W., Chrzanowski W. Silica-based mesoporous nanoparticles for controlled drug delivery // *J. Tissue Eng*. 2013. Vol. 4. P.

7. Долинина Е.С. Кинетика и механизмы адсорбции лекарственного вещества молсидомин на мезопористых диоксидах кремния и его десорбции (высвобождения) из их композитов: дис. Ин-т химии растворов им. ГА Крестова РАН, 2015. 33 с.

УДК 615.015.11

Подчуфарова В.А.¹, Зиновьева А.Д.²,

Левицкая О.В.³, Борисова Т.Н.⁴

*¹⁻⁴Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы
Москва*

¹1032201646@pfur.ru; ²zinovyeva-ad@rudn.ru;

³titorovich-ov@rudn.ru; ⁴borisova-tn@rudn.ru

НАПРАВЛЕННЫЙ СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ДИПИРРОЛО[1,2-А: 2',1'-С][1,4]БЕНЗОДИАЗЕПИНА С УЛУЧШЕННЫМИ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

В настоящей работе был разработан подход к синтезу новых производных дипирроло[1,2-а:2',1'-с][1,4]бензодиазепина, характеризующихся улучшенной растворимостью в воде. Методом молекулярного докинга доказано избирательное связывание синтезированных лигандов с сайтом бромодоменсодержащего белка Bdf1 *Candida albicans*.

Ключевые слова: производные дипирроло[1,2-а:2',1'-с][1,4]бензодиазепина, растворимость, *in silico*, молекулярный докинг, противогрибковая активность.

Podchufarova V.A.¹, Zinovieva A.D.²,

Levitskaya O.V.³, Borisova T.N.⁴

*¹⁻⁴Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba
Moscow*

DIRECTED SYNTHESIS OF DIPYRROLO[1,2-A:2',1'-C][1,4]BENZODIAZEPINE DERIVATIVES WITH IMPROVED PHARMACOKINETIC CHARACTERISTICS

In this study, an approach to the synthesis of novel dipyrrolo[1,2-a:2',1'-c][1,4]benzodiazepine derivatives characterized by improved aqueous solubility was developed. Selective binding of the synthesized ligands to Bdf1 bromodomain-containing protein site of Candida albicans has been proved by molecular docking method.

Keywords: *dipyrrolo[1,2-a:2',1'-c][1,4]benzodiazepine derivatives, solubility, in silico, molecular docking, antifungal activity.*

Ранее проведен синтез производных дипирроло[1,2-а:2',1'-с][1,4]бензодиазепинов (ДПБД), содержащих альдегидную группу, исходя из 1-(2-аминометилфенил)пиррола и производных 4-ароил-6Н-пирроло[1,2-а][1,4]бензодиазепинов с участием сопряженных, электронодефицитных алкенов. Для некоторых соединений *in vitro* установлена фунгистатическая активность в отношении *C. albicans*, MIC=8 мкг/мл [1]. Подходами *in silico* доказано связывание с активным сайтом бромодоменсодержащего белка Bdf1 *C. albicans*, являющегося перспективной мишенью в противогрибковой терапии.

Необходимость разработки новых противомикробных препаратов возрастает на фоне появления штаммов *Candida spp.*, устойчивых к существующим подходам медикаментозной терапии. Грибы рода *Candida* колонизируют кожу, мочевыводящие пути и желудочно-кишечный тракт приблизительно у 60% населения [2]. Патогенность микроорганизма проявляется на фоне приема антибиотиков широкого спектра действия, кортикостероидов и иммуносупрессивных препаратов. Особую группу риска составляют пациенты с ВИЧ/СПИД [3]. Уровень смертности от инвазивных форм кандидоза более 40% в странах Европы и Азии [4]. Так, бромодоменсодержащий белок Bdf1 *C. albicans*, участвующий в транскрипции, является перспективной мишенью в противогрибковой терапии [5].

Однако низкая растворимость в воде синтезированных производных ДПБД позволяет использовать потенциальные антимикотики только в виде лекарственных форм для наружного применения.

Растворимость в воде определяет фармакокинетические характеристики и эффективность лекарственных средств (ЛС) для парентерального применения. Однако, более 40% современных ЛС характеризуются как мало растворимые в воде соединения. Таким образом, направленный синтез соединений, с целью улучшения физико-химических характеристик, в частности водорастворимости, — важнейшее направление в разработке лекарственных средств [6].

Подходы *in silico* позволяют снизить затраты на разработку новых активных фармацевтических ингредиентов.

Цель работы: разработка методики синтеза новых производных дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепина (ДПБД), обладающих растворимостью в воде, *in silico* моделирование противогрибковой активности производных ДПБД.

Методы и материалы. Методика синтеза 2-{{(13-фенил-9*H*-дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепин-12-ил)метил)амино} этанола гидрохлорида.

К раствору 0,22 ммоль 13-фенил-9*H*-дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепин-12-карбальдегида (**1**) в 5 мл абсолютного бензола добавляют 0,23 ммоль моноэтаноламина и молекулярные сита 3Å. Реакция проходит при кипячении в течение 16 часов. После окончания реакции удаляют бензол, добавляют 5 мл абсолютного метанола и 0,84 ммоль NaBH₄. Реакцию проводят 8 часов при перемешивании, затем 1 час при кипячении. Метанол удаляют, остаток обрабатывают 10 мл воды. Далее проводят экстракцию этилацетатом с последующим удалением растворителя. Полученный 2-{{(13-фенил-9*H*-дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепин-12-ил)метил)амино} этанол растворяют в 5 мл дихлорметана, к раствору по каплям добавляют концентрированную соляную кислоту (до pH=2). Затем растворитель удаляют, остаток кристаллизуют в диэтиловом эфире.

QSAR-моделирование физико-химических свойств было проведено с использованием ресурса Swiss Drug Design (<http://www.molecular-modelling.ch/swiss-drug-design.html>, SIB Swiss Institute of Bioinformatics).

Безопасность/токсичность оценивали по спрогнозированной полуметальной дозе (LD50) с помощью платформы ProTox 3.0 (<http://tox.charite.de/prottox3/index.php?site=home>).

Трехмерная закристаллизованная структура белка Bdf1 *C. albicans* (PDB ID: 5N17, разрешение 1.60 Å, Kd=4800nM) загружена из базы данных RSCB PDB (<http://www.rcsb.org>). 3D структуры производных ДПБД получены в программе Avogadro. Для оптимизации и подготовки структур и проведения молекулярного докинга использовалось прикладное программное обеспечение SOLGRID и SOL, разработанные «Лабораторией вычислительных систем и прикладных технологий программирования НИВЦ МГУ». Визуализация взаимодействий системы белок-лиганд проводилась с использованием модуля Flare CRESSET (Litlington, Cambridgeshire, UK; <http://www.cresset-group.com/>).

Результаты и их обсуждение. Смоделированные физико-химические свойства производных ДПБД (**1-9**) (табл. 1), а также последующее экспериментальное подтверждение растворимости в воде на уровне «практически не растворим», согласно ОФС «Растворимость» ГФ РФ 15 [7], послужили предпосылкой получения новых синтетических производных ДПБД.

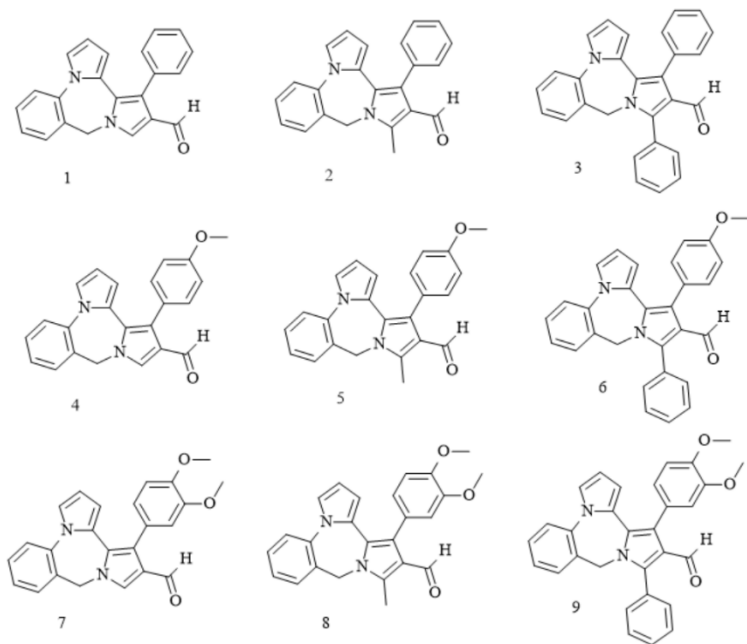


Рис. 1. Структурные формулы производных дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепина

Таблица 1

**Физико-химические характеристики производных
дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепина**

	MW, г/моль	LogP	LogKp, см/с	TPSA, Å²	logS	Растворимость в воде (по ГФ РФ15)
1	324,38	3,64	-5,78	26,93	-3,77	Практически нерастворим
2	338,40	3,91	-5,58	26,93	-4,18	Практически нерастворим
3	400,47	4,91	-5,07	26,93	-5,49	Практически нерастворим
4	354,40	3,62	-5,98	36,16	-3,93	Практически нерастворим
5	368,43	3,94	-5,79	36,16	-4,35	Практически нерастворим
6	430,50	4,91	-5,27	36,16	-5,65	Практически нерастворим
7	384,43	3,56	-6,19	45,39	-4,09	Практически нерастворим
8	398,45	3,90	-5,99	45,39	-4,51	Практически нерастворим
9	460,52	4,86	-5,47	45,39	-5,83	Практически нерастворим

Примечание: MW — молекулярная масса, LogP — липофильность, логарифм распределения в системе октанол-вода, LogKp — TPSA (topological polar surface area) — топологическая полярная площадь поверхности), LogS — растворимость (спрогнозированная).

С целью синтеза соединений, перспективных в качестве анимикотиков, получен амин ряда дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепинов (**1a**). Для этого было осуществлено восстановительное аминирование 13-фенил-9*H*-дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепин-12-карбальдегида (**1**) с участием моноэтаноламина и боргидрида натрия. Для улучшения растворимости амина (**1a**) в водных средах получена соль соляной кислоты (**1b**).

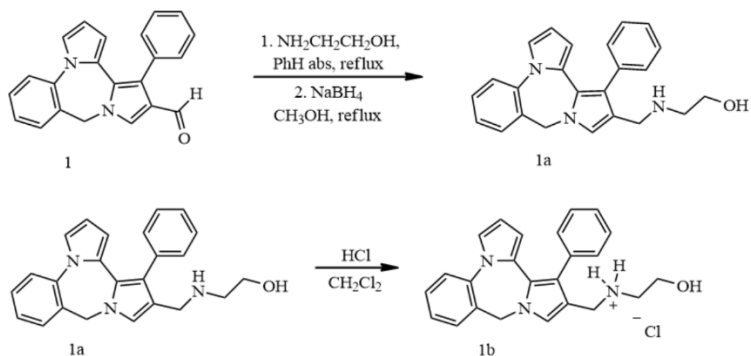


Рис. 2. Синтез 2-{{(13-фенил-9*H*-дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепин-12-ил)метил}амино}этанол

Смоделированная растворимость ($\log S = -3,28$) определяет повышенную биодоступность **1a** в ряду синтезированных производных ДПБД. Полученная соль (**1b**) будет характеризоваться еще большей растворимостью *in vitro*. В то же время, спрогнозированное значение $\text{LD}_{50} = 375$ мг/кг может свидетельствовать о недостаточной безопасности нового производного и определяет направление дальнейшего синтеза.

Таблица 2

Физико-химические характеристики 2-{{(13-фенил-9*H*-дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепин-12-ил)метил}амино}этанол

	MW, г/моль	Log P	LogK _p , см/с	TPSA, Å ²	Число Csp ³ атомов	logS	LD ₅₀ , мг/кг
1a	369,46	3,29	-6,61	42,12	0,17	-3,28	375

Примечание: MW — молекулярная масса, LogP — липофильность, LogK_p — коэффициент проницаемости, TPSA (topological polar surface area) — топологическая полярная площадь поверхности, logS — растворимость, LD₅₀ — полуметальная доза.

Оценка специфичности связывания с целевым сайтом бромодоменсодержащего белка Bdf1 *C. albicans* проводилась с

помощью молекулярного докинга (МД). Валидация методики МД осуществлена путем позиционирования нативного лиганда структуры PDB ID: 5N17 в сайте связывания белка Bdf1 *C. albicans* в программе SOL: скоринг-функция составила -4.3 ккал/моль, кластеризация 100%.

Полученные значения энергий связывания (скоринг-функции) для производных ДПБД представлены в таблице 1. Внедрение в структуру лиганда двух метокси-групп способствовало снижению энергии связывания с белком-мишенью за счет образования дополнительных водородных связей. Согласно результатам молекулярного моделирования, производные ДПБД взаимодействуют с ключевыми аминокислотами активного центра: Pro233, Phe290, Ile297, Phe234, Cys287, Val238, Leu243, Val245 а также Tyr248 и Asn291 [5] (Рис. 3). Согласование результатов молекулярного моделирования с установленной *in vitro* активностью производных ДПБД позволяют связать фунгицидные свойства производных ДПБД с ингибированием бромодоменсодержащего белка Bdf1.

Таблица 3. Значения скоринг-функции для соединений 1-9

Номер соединения	Значение скоринг-функции, ккал/моль
1	-4,46
2	-4,47
3	-4,95
4	-4,54
5	-4,70
6	-4,70
7	-5,20
8	-5,02
9	-5,29
1a	-4,64

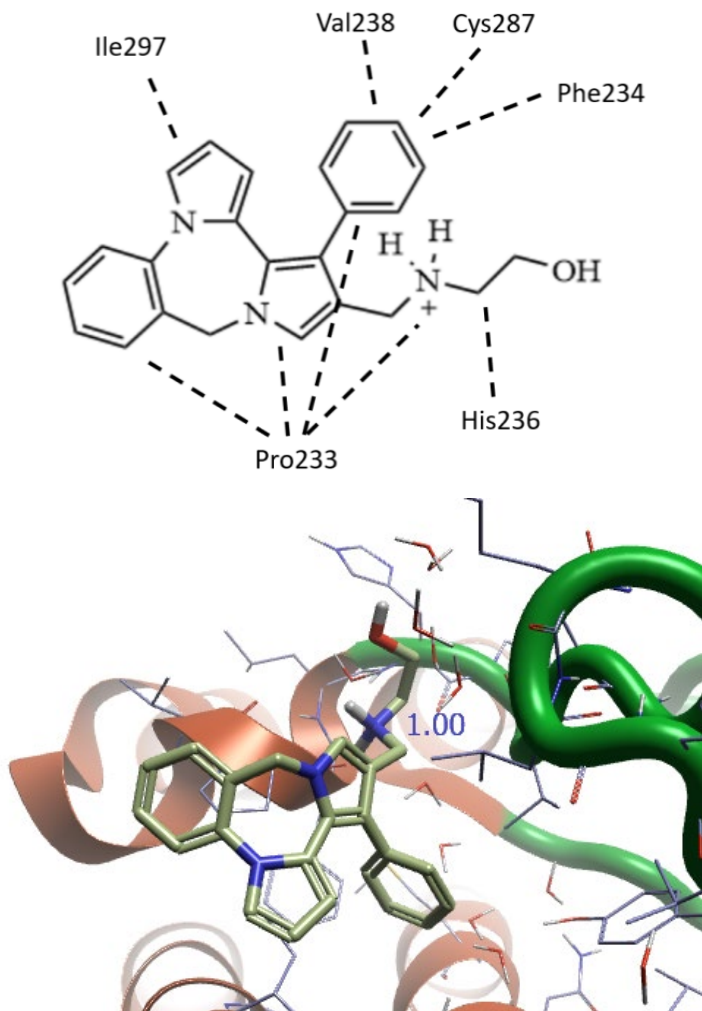


Рис. 3. Визуализация результатов молекулярного докинга для соединения 1a

Заключение. Направленный синтез позволил получить 2-[[[(13-фенил-9*H*-дипирроло[1,2-*a*:2',1'-*c*][1,4]бензодиазепин-12-ил)метил]амино}этанол и его соль, обладающую улучшенной растворимостью в воде, что обеспечивает более высокую

биодоступность при пероральном применении по сравнению с ранее синтезированными соединениями. Значение скоринг-функции -4.64 ккал/моль, а также совпадения остатков аминокислот Pro233, Phe290, Ile297, Phe234, Cys287, Val238, Leu243, Val245 а также Tyr248 и Asn291 в сайте связывания бромодоменсодержащего белка Bdf1 с соединением 1a подтверждает его противогрибковый потенциал. Дальнейшая структурная оптимизация производных ДПБД необходима для создания более безопасных антимикотических ЛС.

Список литературы

1. Zinoveva A., Borisova T., Podchufarova V. [et al.]. Synthesis Of Dipyrrolobenzo[1,2-a:2',1'-c][1,4]diazepine Scaffold Via Three-Component Reaction// Asian J. Org. Chem. 2024. N. e202400010. doi: <https://doi.org/10.1002/ajoc.202400010>.
2. Dalben Y. R., Pimentel J., Maifrede S.B. [et al.]. Early Candida colonisation impact on patients and healthcare professionals in an intensive care unit// Mycoses. 2024. V67. doi: 10.1111/myc.13786.
3. Keyvanfar A., Amirreza H. [et al.]. Drug-resistant oral candidiasis in patients with HIV infection: a systematic review and meta-analysis// BMC infectious diseases. 2024. Vol. 24,1 546. doi:10.1186/s12879-024-09442-6.
4. Bays D.J., Jenkins E.N. [et al.]. Epidemiology of Invasive Candidiasis// Clinical epidemiology. 2024. Vol. 16, P 549-566. doi: 10.2147/CLEP.S459600
5. Mietton F, Ferri E., Champlébois M. [et al.]. Selective BET bromodomain inhibition as an antifungal therapeutic strategy// Nature communications. 2024. Vol. 8 15482. doi: 10.1038/ncomms15482
6. Kumari A., Choudhari Y., Patel P. et al.. Advancement in Solubilization Approaches: A Step towards Bioavailability Enhancement of Poorly Soluble Drugs // Life 2023. Vol 13(5). doi: <https://doi.org/10.3390/life13051099>.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание, 2023. Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru> (дата обращения 17.09.2024).

Попов А.С., Иванова И.С.

*Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербург
porovas1965@mail.ru*

ОТНЕСЕНИЕ ФОТОЭЛЕКТРОННЫХ СПЕКТРОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ГИДРАЗИНОВ

Нейротропная активность производных диазиридина связана со специфической конформацией молекул. В методе фотоэлектронной спектроскопии измеряются первые потенциалы ионизации. Квантово-химические расчеты позволяют провести отнесение потенциалов ионизации и однозначно определить конформационное строение замещенных диазиридинов и бициклических напряженных гидразинов.

Ключевые слова: *диазиридин, фотоэлектронный спектр, потенциал ионизации, цис-, транс-конформация молекул.*

Popov A.S., Ivanova I.S.

*North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov
St. Petersburg*

ATTRIBUTION OF PHOTOELECTRON SPECTRA OF CYCLIC HYDRAZINES

The neurotropic activity of diaziridine derivatives is associated with a specific conformation of molecules. First ionization potentials are measured in the method of photoelectron spectroscopy. Quantum chemical calculations allow to attribute obtained ionization potentials and unambiguously determine the conformational structure of substituted diaziridines and bicyclic tension hydrazines.

Keywords: *diaziridine, photoelectron spectrum, ionization potential, cis-, trans-conformation of molecules.*

Изучение циклических производных гидразина — диазиридинов, обусловлено их низкой токсичностью [1] и выраженной биологической нейротропной активностью (антидепрессивной, транквилизирующей, нейролептической) [2]. Механизм действия этих веществ малоизучен, однако имеется

информация, что диазиридины действуют на mGluR1, mGluR2, mGluR8 и 5-HT3. По всей видимости, биологическая активность обусловлена устойчивой конформацией молекул с пирамидальной структурой атомов азота и фиксированной локализацией их неподеленных электронных пар (НЭП).

Фотоэлектронная спектроскопия (ФЭС), как метод, изучающий электронные спектры веществ как в газовом, так и в конденсированном (жидком или твердом) состоянии, оформился еще в последней четверти двадцатого века как плодотворный подход к изучению различных свойств соединений. Исследование реакционной способности и каталитической активности соединений, их электронного и пространственного строения востребованы наравне с качественным и количественным анализом (ESCA — electronic spectroscopy for chemical analysis) [3]. Метод ФЭС базируется на явлении фотоэлектронной эмиссии, когда монохроматическое излучение в рентгеновском или дальнем ультрафиолетовом диапазоне ($10^2 - 10^4$ эВ) способно приводить к выбиванию электронов, как правило, на высоких энергетических уровнях, из молекул, ионов, радикалов и атомов. Анализ спектров ФЭС позволяет рассчитать несколько первых потенциалов ионизации (ПИ) и, следовательно, энергию связи электронов в анализируемом веществе.

Гидразин и его производные характеризуются специфическим взаимодействием неподеленных электронных пар атомов азота, которые непосредственно ковалентно связаны. В результате вырожденные электронные состояния этих НЭП становятся неэквивалентными: симметричными орбиталями n_+ и несимметричными n_- соответственно. При сохранении симметрии C_2 (оси, расположенной в центре связи N-N и перпендикулярно ей, рис. 1, показана пунктиром) в соответствии с теорией возмущений расщепление энергий этих орбиталей:

$$\Delta = E(n_+) - E(n_-) = 2H_{12} \sim kS_{12}$$

где H_{12} — недиагональная матрица Гамильтониана, S_{12} — интеграл перекрывания орбиталей. Последний коррелирует с диэдральным углом φ поворота заместителей R_1 и R_2 , соединенных соответственно с первым и вторым атомами азота (Рис.1). Следовательно, измеряя Δ - расщепление энергий орбиталей n_+ и n_- , можно судить о конформации замещенного гидразина. Расщепление Δ должно быть теоретически

минимальным при ортогональной ориентации НЭП и увеличивается при отклонении от ортогональности как в сторону большего угла, так и меньшего. Современные прикладные методы квантовой химии позволяют достаточно точно рассчитывать расщепление энергии Δ , что позволяет относить экспериментальные ПИ из ФЭС-измерений к достаточно крупным молекулам без упрощающих допущений о слабом взаимодействии НЭП с электронами σ -связей и даже с высоколежащими по энергии электронами π -связей в заместителях. Методы квантовой механики хорошо воспроизводят изменение энергии орбиталей в ряду различных заместителей, позволяют уверенно относить ПИ к определенным орбиталям и трактовать конформацию молекул, но должны опираться на абсолютные значения ПИ, полученные методом ФЭС.

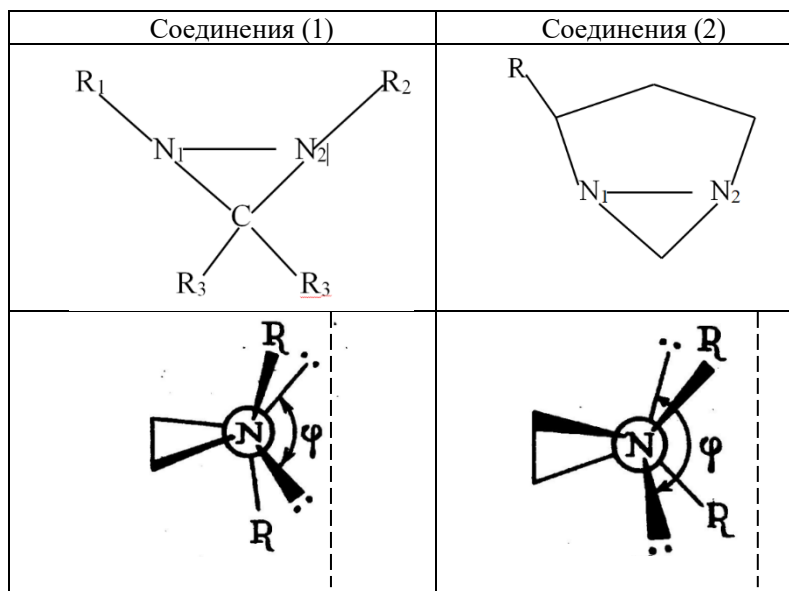


Рис. 1. Нумерация соединений, структурная формула и проекция Ньюмена диазиридинов по связи N-N. Пунктирная линия — ось симметрии C_2

В настоящем исследовании методом теории возмущений (MP2/6-31G**) рассчитаны орбитальные энергии двух рядов соединений — замещенных диазиридинов и бициклических диазиридинов (Рис.1), геометрия которых задавалась определенным значением диэдрального угла ϕ . Данные расчетов (величина расщепления энергии Δ) сравнивалась с аналогичной разницей ПИ₁ и ПИ₂. Результаты ФЭС и расчетов (MP2/6-31G**) циклических гидразинов, содержащих эндоциклическую связь N-N, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Значения первых потенциалов ионизации и расщепление энергии Δ , измеренные методом ФЭС и расчетные Δ (MP2/6-31G)**

Соединение	ПИ ₁ , эВ	ПИ ₂ , эВ	Δ (ФЭС), эВ	Δ (MP2/6- 31G**), эВ
(1.1) R ₁ =R ₂ =CH ₃ , R ₃ =H	9,42	10,01	0,59	0,61
(1.2) R ₁ =R ₂ =H, R ₃ =CH ₃	9,90	10,41	0,51	0,52
(1.3) R ₁ =R ₂ =R ₃ = CH ₃	8,94	9,54	0,60	0,63
(1.4) R ₁ =R ₃ =CH ₃ , R ₂ =H	9,20	10,05	0,85	0,83
(2.1) R=H	9,02	10,42	1,40	1,45
(2.2) R=CH ₃	8,78	10,18	1,40	1,46

Как видно из табл. 1, величины Δ , расчетная и экспериментальная, хорошо коррелируют между собой, это доказывает приемлемость использования расчетных методов уровня MP2/6-31G**. Для 1,3,3- триметилдиазиридина (1.1), 3,3-диметил диазиридина (1.2) и 1,2,3,3-тетраметилдиазиридина (1.3) расщепление энергии составляет от 0,5 до 0,6 эВ, что приближается к таковым значениям для ациклических

гидразинов. Диэдральный угол ϕ при этом около 150° , следовательно, в указанных симметрично-замещенных диазиридинах заместители при атомах азота находятся в *trans*-конформации. Для несимметрично-замещенного 1,3-диметилдиазиридина (1.4) расщепление энергии Δ достигает 0,85 эВ, соответственно диэдральный угол уменьшается. В работах [4, 5] первые ПИ₁ и ПИ₂ были отнесены к несвязывающим НЭП атомов азота. Но проблемой является тот факт, что угол ϕ (около 150°) следует считать достаточно большим для *trans*-замещенных диазиридинов. Данные ФЭС также показывают, что не два ПИ, а три близко расположенных полосы обнаружены в области энергии меньше 12 эВ. Полученные в настоящей работе расчетные значения орбитальных энергий подтверждают, что ПИ₂ следует отнести к высоколежащей по энергии σ -орбитали, а не п (не НЭП соседнего азота).

Анализ данных по бициклическим диазиридинам (2.1) и (2.2) приводит к выводу, что они существуют в *cis*-конформации. Разность первого и второго ПИ составляет 1,4 эВ, это в три раза больше, чем для самих *trans*-диазиридинов (1.1)-(1.4). Рассчитанный диэдральный угол ϕ составляет практически 10° . Реализуется сильное взаимодействие σ - и n - молекулярных орбиталей, которое также находит отражение в увеличении эффективных расчетных зарядов на атомах азота. Следовательно, ПИ₁ и ПИ₂ необходимо отнести к несвязывающим n -орбиталиям, которые соответствуют НЭП атомов азота.

Список литературы

1. Прокопов А. А. Методологические аспекты изучения экспериментальной фармакокинетики и метаболизма новых психотропных, ноотропных и антиоксидантных лекарственных средств. Автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора химических наук. РУДН. М.: 2006.
2. Kuznetsov V. V., V. Ovchinnikova B., Ananikov V. P., Makhova N. N., Russ. // Chem. Bull., Int. Ed., 2006, 55, 2056.
3. Мазалов Л. Н. Рентгеноэлектронная спектроскопия и её применение в химии // Соросовский образовательный журнал, т.6, № 4, 2000. с. 37-44.
4. Rademacher P., Koopmann H. // Chem, Ber, 1975, Bd 108, S. 1557-1569.
5. Rademacher P. // Tetrahedron Lett. 1974, P. 84-86.

УДК 76.31.35

Хикматова Ш.Ш., Расулова Ю.З.

Бухарский государственный медицинский институт

имени Абу Али ибн Сина

Бухара, Узбекистан

teshayevaxurshidabonu5@gmail.com

**ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА КРАСКИ ШЕЛКОВЫХ
ТКАНЕЙ ВОДОРАСТВОРИМЫМИ КРАСИТЕЛЯМИ В
ПРИСУТСТВИИ ХИТОЗАНА**

В статье представлены результаты применения хитозановых вспомогательных средств для улучшения процесса крашения шелковых тканей активными красителями. Использование хитозана в качестве интенсификатора при крашении шелковых тканей позволило существенно снизить температуру, на 30% повысить красящие свойства импортного активного красителя, а также повысить качество текстильного материала при экономии химикатов.

Ключевые слова: хитозан, шелковые ткани, красители.

Hikmatova Sh.Sh., Rasulova Yu.Z.

Bukhara State Medical Institute

Bukhara, Uzbekistan

**INTENSIFICATION OF THE PROCESS OF DYEING SILK
FABRICS WITH WATER-SOLUBLE DYES IN THE PRESENCE
OF CHITOSAN**

The article presents the results of studying the possibilities of chitosan auxiliaries for textiles to activate the process of dyeing silk fabrics with active dyes. The use of chitosan as an intensifier in the dyeing of silk fabrics made it possible to significantly reduce the temperature, increase the coloring properties of the imported active dye by 30%, and also improve the quality of the textile material while saving chemicals.

Keywords: chitosan, silk fabrics, dyes.

Целью данного исследования является изучение процесса окрашивания шелковых тканей водорастворимыми красителями в присутствии хитозана

Метод и материалы исследования. В настоящее время, учитывая рыночные отношения и растущую конкуренцию между

текстильными предприятиями в условиях повышения требований к качеству текстильных материалов, наблюдается тенденция создания ресурсосберегающих и экологически чистых технологий с использованием отечественных местных ресурсов. Несомненно, в настоящее время возрастает интерес к аминополисахаридам, особенно к хитозану (ChZ), который обладает рядом ценных свойств, таких как биоразлагаемость, экологичность, пленкообразующие и загущающие свойства. Известно, что хитозан обладает антибактериальными свойствами, хорошей биологической активностью и способностью образовывать пленки. Помимо этих свойств, хитозан подвергается биологическому разложению без образования вредных веществ, получается путем химической модификации возобновляемых природных соединений и является экологически чистым биоразлагаемым полимером.

Хитозан мы получили из пчелиного подмора химическим методом. Химический метод основан на депротонировании, деминерализации и депигментации с использованием химических реагентов: кислот, щелочей, перекисей и др. Хитозан активно применяется в текстильной промышленности для крашения, печати и отделки различных натуральных тканей, таких как шерсть, хлопок и шелк. Уникальная структура макромолекулы хитозана и наличие положительного заряда расширяет сферу его применения. Известно, что интенсифицировать процесс крашения при закреплении красителей можно путем введения органических соединений так, чтобы вещество легко удалялось и биологически разлагалось. В свою очередь, использование интенсификаторов обеспечивает высокую экономическую эффективность и минимальную концентрацию в красильной ванне.

Для исследования использовали синтезированный хитозан из подмора пчел *Apis Mellifera*., крепдешиновую ткань производства «Бухара Бриллиант Шелк», а также активный краситель.

Композиция для крашения натурального шелка активными красителями, содержащая активный краситель, карбонат натрия, электролит и воду, дополнительно содержит усилитель красителя (хитозан), а в качестве электролита используется сульфат натрия (Na_2SO_4), повышающий селективность перевода красителя из раствора на шелк. В качестве щелочного агента используется

карбонат натрия, который создает оптимальную среду pH для реакции красителя с шелком. При следующем соотношении компонентов, г/л: краситель - 0,4 г/л; карбонат натрия — 2г/л; сульфат натрия — 20 г/л; хитозан — 0,1-1,5 г/л; вода — до 1 литра.

Заявляемая композиция приготовлена следующим способом; в отмеренное количество умягченной воды при интенсивном перемешивании мешалкой добавлялся хитозан до концентрации 0,4 г/л (или 3% от массы шелка) и перемешивался до полного растворения красителя при температуре 25-30°C. Синтезированный хитозан в качестве усилителя в дальнейшем использовали для окраски крепдешинового ткани.

Выводы. Примененный метод оказался удовлетворительным для интенсификации процесса окрашивания шелковых тканей водорастворимыми красителями в присутствии хитозана. По полученным результатам можно сделать вывод, что лучшим для интенсификации шелковых тканей является аминополисахарид-хитозан, который обладает рядом ценных свойств, таких как биоразлагаемость, экологичность, загущающими и антибактериальными свойствами, хорошей биологической активностью и способностью образовывать пленки.

Список литературы

1. Хазратова Д. А., Ихтиярова Г. А. Интенсификация процесса крашения шелковых тканей активными красителями с хитозаном //Universum: технические науки. 2021. № 4-3 (85). С. 17-20.
2. Хазратова Д. А. Изучение физико-химических свойств окрашенных шелковых и хлопко-шелковых тканей на основе хитозана // Центр научных публикаций (buxdu. uz). 2021. Т. 8, № 8.
3. Ixtiyarova G. A. et al. Extraction of chitosan from died honey bee apis mellifera //Chemical Technology, Control and Management. 2020. Т. 2020. No. 2. С. 15-20.
4. Нурутдинова Ф., Хазратова Д., Жахонкулова З. Study of antimicrobial and rheological properties of chitosan-based apis mellifera //EurasianUnionScientists. 2021. Т. 3. No. 3(84). С. 48-52.
5. Ихтиярова Г. А., Хазратова Д. А., Сафарова М. А. Разработка состава смешанных загусток на основе карбоксиметилкрахмала и узхитана для печатания хлопково-шелковых тканей //Universum: технические науки. 2020. No. 6-2 (75). С. 33-35.

6. Hazratova D. Интенсификация процесса окрашивания шелковых тканей водорастворимыми красителями в присутствии хитозана // Центр научных публикаций (buxdu.uz). 2020. Т. 1, № 1.

7. Нурутдинова Ф., Хазратова Д., Жахонкулова З. Study of antimicrobial and rheological properties of chitosan-based apis mellifera // Eurasian Union Scientists. 2021. Т. 3. No. 3 (84). С. 48-52.

8. Ихтиярова Г.А., Хазратова Д., Менглиев А.С. и Муйинова Н. (2020). Возможные сырьевые источники хитозана и подходы к его производству // Технология потребления. С. 146–148.

9. Ikhtiyarova G., Khazratova D., Safarova M. Development of the composition with mixed thickeners based on carboxymethyl starch and uzchitan for printing cotton-silk fabrics. Universum: технические науки. Москва. 2020. №6 (75). С. 33-36.

10. Ихтиярова Г. А., Яриев О. М., Хазратова Д. А. Изучения реологических свойств комплексных загусток на основе карбоксиметилкрахмала, узхитана и акриловых полимеров // Журнал ДАН Узбекистана. 2016. № 5. С. 6-6.5.

УДК 57.033

Шалгуев В.И.¹, Обухова И.А.², Соболева Н.Г.¹

*¹Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова Национального исследовательского
центра «Курчатовский институт»
Гатчина*

*²Санкт-Петербургский государственный лесотехнический
университет им. С.М. Кирова
Санкт-Петербург
shalguyev_vi@pnpi.nrcki.ru*

**ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ТРЕХ БЕЛКОВ: БЫЧЬЕГО
СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, ЗЕЛЕННОГО
ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА, РИБОНУКЛЕАЗЫ А
К ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСА МЕТОДОМ
КД-СПЕКТРОСКОПИИ**

В работе исследовали стабильность третичной структуры белков после воздействия электрического импульса. Оценена стабильность третичной структуры трех глобулярных белков: бычьего сывороточного альбумина, зеленого флуоресцентного

белка и рибонуклеазы А в растворе методом спектроскопии кругового дихроизма.

Ключевые слова: круговой дихроизм (КД), устойчивость третичной структуры белка.

Shalguev V.I.¹, Soboleva N.G., ¹Obukhova I.A.²

¹*Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov
of NRC «Kurchatov Institute»
Gatchina*

²*St. Petersburg State Forest Technical University
named after S.M. Kirov
St. Petersburg*

**EVALUATION OF THE STABILITY OF THREE PROTEINS:
BOVINE SERUM ALBUMIN, GREEN FLUORESCENT PROTEIN,
RIBONUCLEASE A TO THE EFFECTS OF ELECTRICAL
IMPULSES USING CD-SPECTROSCOPY**

The stability of the interethnic structure after the pulse was studied. The stability of the third globular structure of three globular proteins was estimated: former serum albumin, green fluorescent protein and ribonuclease A in solution using the circular dichroism spectroscopy method.

Keywords: circular dichroism, stability of the tertiary structure of proteins.

Спектроскопия кругового дихроизма основана на анизотропии оптически активных молекул при пропускании света, поляризованного по правому или левому кругу. Спектроскопия кругового дихроизма (КД) используется для определения оптической изомерии и вторичной структуры молекул. Круговой дихроизм, измеряемый в молярной эллиптичности, представляет собой разницу в поглощении левостороннего и правостороннего кругово поляризованного света и может наблюдаться в оптически активных молекулах с хиральными центрами [1-7].

Белки, как правило, имеют много хиральных центров. Хиральность — это отсутствие симметрии относительно правой и левой стороны. Спектры КД в дальнем УФ-диапазоне (185–250 нм) используются для изучения вторичной и третичной структуры белка [8, 9] в растворе. В данной работе оценивалась устойчивость третичной структуры трех глобулярных белков (рис. 1) в растворе: бычьего сывороточного альбумина (БСА),

зеленого флуоресцентного белка (GFP), рибонуклеазы А (РНКаза А) к воздействию электроимпульса путем анализа характерных пиков КД-спектров (рис. 2).

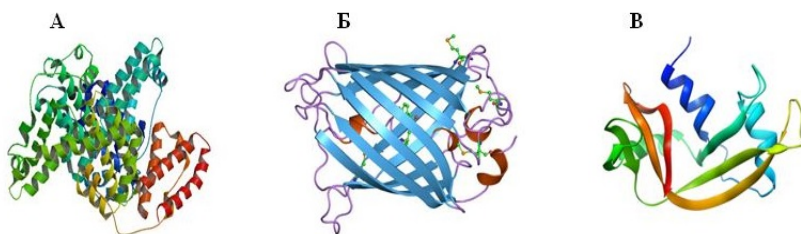


Рис. 1. Третичная структура белков: *A* — БСА (PDB ID: 3V03); *Б* — GFP (PDB ID: 1GFL); *В* — РНКазаА (PDB ID: 6RSA). Для генерации электрического импульса использовался электропоратор для бактерий и дрожжей (Eppendorf, США) [10]. Препараты белков готовили, как указано в источнике [10]. Измерения кругового дихроизма (КД) пептидов проводились с помощью спектрополяриметра JASCO J-815. Спектры КД регистрировались при комнатной температуре в ячейке с длиной оптического пути 1 см.

КД-спектры белков БСА и РНКаза А с минимумами при 208 и 222 нм и максимумом при 190 нм типичны для α -спиральной формы белка

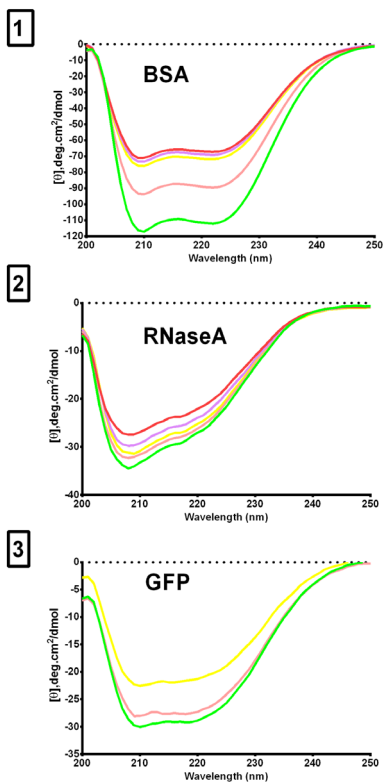




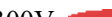


Рис. 2. Спектры КД в дальнем УФ-диапазоне белков: 1) БСА (BSA); 2) РНКазыА (RnaseA); 3) зеленого флуоресцентного белка (GFP). Обозначения:  - 0V;  - 120V;  - 190V;  - 300V;  - 600V

При определенных параметрах импульса у каждого исследуемого белка после воздействия изменялась третичная структура. Как видно из КД-спектров трех исследуемых белков, наиболее стабильным белком к воздействию электроимпульса оказался белок РНКазыА.

Список литературы

1. Böhm G., Muhr R., Jaenicke R. Quantitative analysis of protein far UV circular dichroism spectra by neural networks // Protein Engineering, Design and Selection. 1992. Т. 5. № 3. С. 191–195.
2. Bulheller B. M., Rodger A., Hirst J. D. Circular and linear dichroism of proteins // Physical Chemistry Chemical Physics. 2007. Т. 9. № 17. С. 2020–2035.
3. Greenfield N. J. Methods to estimate the conformation of proteins and polypeptides from circular dichroism data // Analytical biochemistry. 1996. Т. 235. № 1. С. 1-10.
4. Greenfield N. J. Using circular dichroism spectra to estimate protein secondary structure // Nature protocols. 2006. Т. 1. № 6. С. 2876-2890.
5. Jasim S. B. et al. DichroCalc: improvements in computing protein circular dichroism spectroscopy in the near-ultraviolet // Journal of molecular biology. 2018. Т. 430. № 15. С. 2196-2202.
6. Oakley M. T., Bulheller B. M., Hirst J. D. First principles calculations of protein circular dichroism in the far — ultraviolet and beyond // Chirality. 2006. Т. 18. № 5. С. 340–347.
7. Sreerama N., Venyaminov S. Y., Woody R. W. Estimation of protein secondary structure from circular dichroism spectra: inclusion of denatured proteins with native proteins in the analysis // Analytical biochemistry. 2000. Т. 287. № 2. С. 243-251.
8. Whitmore L., Wallace B. A. Protein secondary structure analyses from circular dichroism spectroscopy: methods and reference databases // Biopolymers: Original Research on Biomolecules. 2008. Т. 89. № 5. С. 392–400.
9. Zimmer M. Green fluorescent protein (GFP): applications, structure, and related photophysical behavior // Chemical reviews. 2002. Т. 102. № 3. С. 759–782.
10. Соболева Н.Г., Ланда С.Б., Шалгуев В.И., Обухова И.А., Юнг И.А., Филатов М.В. Белки по-разному устойчивы к воздействию электрического импульса // Сборник научных трудов 4-й Международной конференции, посвященной 135-летию со дня рождения профессора В.В. Лебединского. 7–8 декабря 2023 года. Ч. 1. СПб.: Изд-во ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, 2023. Стр. 225–233.

УДК 541.49.183:546.562.723:547.854.5

Шерстнев В.В.¹, Чухно А.С.², Аникина Е.И.³

¹Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

^{2,3}Северо-Западный государственный медицинский университет

им. И.И. Мечникова

Санкт-Петербург

vladislav.sherstnev@spcspu.ru¹; alex-chuhno@yandex.ru²;

anikinaterina@mail.ru³

**БИОПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ, СИНТЕЗИРОВАННЫЕ НА
ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ
БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА: СТРОЕНИЕ,
СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ**

Статья посвящена синтезу и изучению свойств биополимерных гидрогелей. В ходе своей работы, авторы предложили оригинальную методику модификации белка, применяемого для синтеза, получили гидрогели, изучили их свойства и сравнили друг с другом. В настоящее время, такие материалы востребованы в медицине и биотехнологии.

Ключевые слова: биополимерный гидрогель, денатурация, гелеобразование, биodeградируемая матрица, модифицированный альбумин.

Sherstnev V.V.¹, Chukhno A.S.², Anikina E.I.³

¹St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University,

^{2,3}North-Western State Medical University

named after I.I. Mechnikov

St. Petersburg

**BIOPOLYMER HYDROGELS SYNTHESIZED ON THE BASIS
OF ACETYLCYSTEINE-MODIFIED BOVINE SERUM ALBUMIN:
STRUCTURE, SYNTHESIS, PROPERTIES, APPLICATION**

The article is devoted to the synthesis and study of the properties of biopolymer hydrogels. In the course of their work, the authors proposed an original method for modifying the protein used for synthesis, obtained hydrogels, studied their properties and compared them with each other. Currently, such materials are in demand in medicine and biotechnology.

Keywords: biopolymer hydrogel, denaturation, gelation, biodegradable matrix, modified albumin.

Введение. Развитие новых технологий в медицине предполагает разработку новых полимерных материалов, обладающих высокой биосовместимостью и биодegradацией. Перспективным видом таких материалов являются биополимерные гидрогели [1].

Гидрогелям характерно разнообразие механических свойств. Эти свойства во многом связаны с их сшитой структурой. Сшивки могут образовываться с участием атомов серы, кислорода, а также некоторых органических соединений, имеющих в своей структуре кратные связи или атомы азота, — например, гетероциклические азотсодержащие соединения [2].

В соответствии с общепринятой классификацией, полимерные гидрогели, в зависимости от метода сшивки, бывают химические — термонеобратимые или гидрогели I рода, и физические — термообратимые или гидрогели II рода [3].

По сравнению с физическими гидрогелями химически сшитые обладают более высокими механическими свойствами, а процесс получения затрачивает меньше времени. Однако, стоит учитывать, что сшивающие агенты, при помещении гидрогеля в живой организм, могут проявлять токсическое действие [4].

В своей работе для синтеза биополимерных гидрогелей мы использовали бычий сывороточный альбумин. Мы предположили, что можно создать биополимерный гидрогель на основе бычьего сывороточного альбумина, если сначала модифицировать его молекулы ацетилцистеином, а затем «сшить» их между собой с помощью:

- а) дисульфидных связей, — физический метод;
- б) с помощью химического вещества (гистидина), — «сшивающего агента», — применив «поперечную сшивку»; — химический метод [5].

Мы также изучили реологические свойства полученных биополимерных гидрогелей в сравнении друг с другом. Такие биополимерные гидрогели являются нетоксичными и биосовместимыми, а после введения в живой организм, через какое-то время, способны полностью деградировать и утилизироваться организмом [6–8].

Разворачивание исходной структуры БСА, — в виде глобул, — проводили, используя химические вещества

(ацетилцистеин и этанол или изопропанол), а затем вызывали агрегацию, — обратный процесс, — сворачивание в глобулы полипептидных цепей белковых молекул под действием физического фактора (температуры) [9].

Если теперь соединить эти глобулы между собой — либо дисульфидными, либо ковалентными химическими связями, — можно получить гель, обладающий новыми свойствами, в отличие от водного раствора альбумина. Так как, в процессе «разворачивания-сворачивания» молекул белка произошла их модификация, — присоединение к ним других химических веществ и, следовательно, произошла по-новому «укладка» в глобулу измененной полипептидной цепи [10].

Экспериментальная часть. Целью нашей работы являлось осуществить синтез биополимерных гидрогелей на основе модифицированного ацетилцистеином бычьего сывороточного альбумина (БСА): сшитого с помощью дисульфидных связей и поперечносшитого с помощью сшивающего агента. А также, изучить свойства полученных биополимерных гидрогелей в сравнении друг с другом.

В работе были использованы: бычий сывороточный альбумин (БСА). Растворы БСА получали путем растворения лиофилизированного белка в растворе. Этанол или изопропанол, ацетилцистеин, гистидин ($\geq 99.5\%$)

Все использованные в работе реактивы соответствовали марке ч.д.а. Все растворы готовились на бидистиллированной воде. Концентрированные растворы готовились по точной навеске, растворы HCl и KCl готовились из фиксалялов, разбавленные — методом последовательного разведения.

Модификацию БСА осуществляли следующим образом. Навеску БСА — 1,2 г растворяли в 100 мл раствора ацетилцистеина (дистиллированной воды с добавлением точной навески ацетилцистеина — 1,2 г); перемешивание осуществлялось с помощью магнитной мешалки до полного растворения. Полученный раствор сливали в фарфоровую чашу, прогревали и упаривали на 50% по объёму. К упаренному раствору БСА добавляли этанол или изопропанол (100 мл) и перемешивали. Затем повторно упаривали до необходимой концентрации.

Для приготовления гидрогелей, — упаривание производили до 20 мл и набирали в пластиковый шприц. В случае синтеза гидрогеля на основе модифицированного БСА, сшитого дисульфидными связями, — шприц с реакционной смесью помещали на сутки в термостат и выдерживали при температуре 80 градусов Цельсия для осуществления процесса сшивки (полимеризации).

В шприц, с реакционной смесью для приготовления гидрогеля на основе поперечносшитого модифицированного БСА, — дополнительно, добавляли 1 мл водного раствора, содержащий 400 мг гистидина и оставляли на сутки полимеризоваться при комнатной температуре.

Реологические свойства, полученных нами биополимерных гидрогелей исследовали на ротационном вискозиметре МТ-202.1 (вискозиметр Брукфелда), при температурах 20 и 40°C (20°C — это комнатная температура; 40°C — это температура внутренней среды живого организма млекопитающих).

Затем, по полученным значениям вязкости, строили реограммы, позволяющие сделать вывод о тиксотропных и псевдопластичных свойствах гидрогелей.

Исследования сорбции H^+ и OH^- -ионов на модифицированном БСА проводились методом непрерывного потенциметрического титрования; электрокинетический потенциал (ζ -потенциал) определяли методом макроэлектрофореза — методом подвижной границы на приборе Чайковского-Малаховой.

Результаты и их обсуждение. По экспериментальным результатам были построены кривые изменения вязкости образцов гидрогелей в зависимости от скорости вращения шпинделя ротационного вискозиметра типа Брукфильда МТ 202 при комнатной температуре (20 °C) и 40 °C.

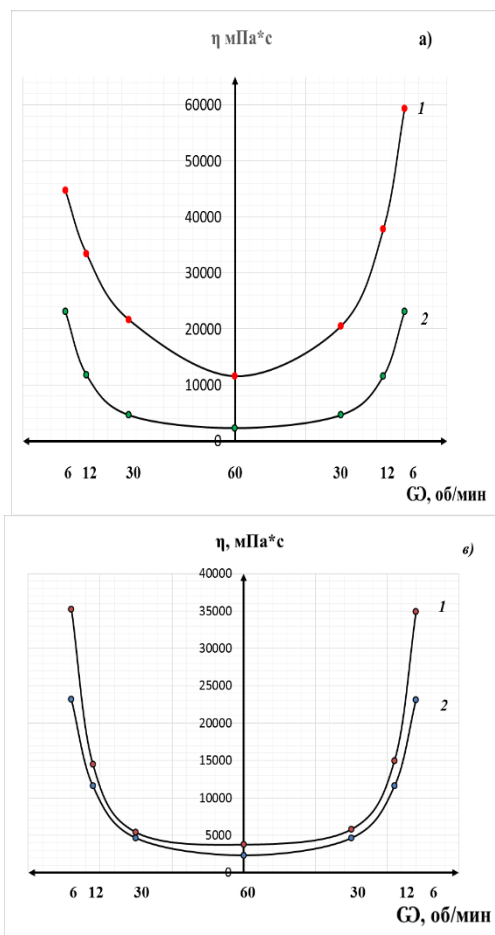


Рис. 1. Графики изменения вязкости образцов гидрогелей при температуре 20 °С (слева — сшитый дисульфидными связями; справа — сшитый с помощью сшивающего агента (гистидина)); при изменении скорости вращения шпинделей: 6; 12; 30; 60; 30; 12; 6 (об/мин); график 1 — шпиндель — № 3, график 2 — шпиндель — № 4)

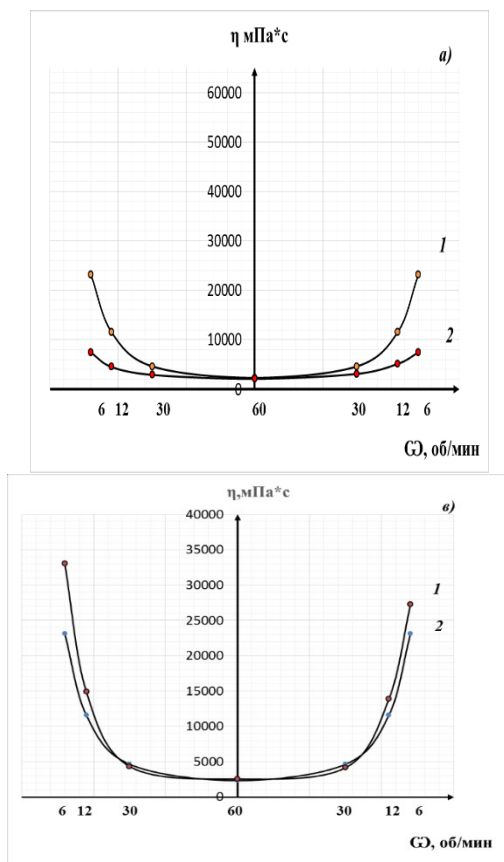


Рис. 2. Графики изменения вязкости образцов гидрогелей при температуре 40 °С (слева — сшитый дисульфидными связями; справа — сшитый с помощью сшивающего агента (гистидина)); при изменении скорости вращения шпинделей: 6; 12; 30; 60; 30; 12; 6 (об/мин); график 1 — шпindelь — № 3, график 2 — шпindelь — № 4)

В обоих образцах рис. 1 и рис 2 наблюдается явление тиксотропии: симметричность ветвей графиков, — вверх и в середине, — говорит о мгновенном восстановлении вязкости геля. В случае геля, сшитого дисульфидными связями, — после механического воздействия он даже улучшил свои показатели вязкости. Графики, — рис. 2 (слева), — с увеличением

температуры появляется незначительное отличие между ветвями графиков, но тем не менее, видно, что восстановление происходит тоже быстро, хотя гель стал мягче, его структура частично разрушилась, и, ему нужно время для восстановления. Введение гистидина, — рис. 2 (справа), — сделало гель жестче. Можно сделать вывод, что гель является псевдопластичным.

Нами также было проведено исследование зависимости вязкости образцов гелей от времени. В этом случае, кривые графиков показали нелинейную зависимость, но с увеличением скорости вращения приближались к прямой. И поэтому, мы сделали вывод, что оба образца гидрогелей псевдопластичны. Гель, сшитый гистидином, более медленно восстанавливает свою структуру, чем гель, сшитый дисульфидными связями.

Выводы. Таким образом, в результате проделанной работы нами были получены биополимерные гидрогели на основе модифицированного ацетилцистеином БСА, обладающие разными свойствами, вследствие модификации молекулы БСА, а также, в результате применения разных способов соединения белковых молекул. О факте модификации свидетельствует изменение заряда внутри белковой молекулы, — по нашему предположению, соединение глобул в гель химическими связями будет происходить между структурами, находящимися внутри, а не снаружи модифицированных молекул БСА.

1. Получен биополимерный гидрогель на основе модифицированного БСА, сшитого дисульфидными связями;

2. Получен биополимерный гидрогель с применением поперечной сшивки химическим веществом, на основе модифицированного ацетилцистеином БСА.

Было установлено, что:

3. При исследовании того и другого образца гидрогеля, наблюдается явление тиксотропии.

4. В обоих случаях, на высоких скоростях вращения ротора, наблюдается псевдопластичность; графики нелинейны, приближаются к прямой; при этом вязкость уменьшается.

Полученные данные могут быть использованы для дальнейших исследований белково-пористых гелей на основе БСА.

Список литературы

1. Kopecek J. Hydrogel biomaterials: a smart future? // *Biomaterials*. 2007. Vol. 28, No. 34. P. 5185-5192. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.07.044. PMID: 17697712; PMCID: PMC2212614.
2. Лозинский В.И. Новое семейство макропористых и сверхмакропористых материалов биотехнологического назначения — полимерные криогели // *Известия Академии наук. Серия: химическая*. 2008. Т. 5. С. 996–1014.
3. Nalampang K. Design and preparation of AMPS-based hydrogels for biomedical use as wound dressings / K. Nalampang, N. Suebsanit, C. Witthayaparakorn, and R. Molloy. // *Chiang Mai Journal of Science*. 2007. Vol. 34, No. 2. P. 183–189.
4. Павлюченко В.Н., Иванчев С.С. Композиционные полимерные гидрогели // *Высокомолекулярные соединения. Серия А*. 2009. Т. 51. № 7. С. 1075–1109.
5. Гроссберг А.Ю. Физика в мире полимеров. / А.Ю. Гроссберг, А.Р. Хохлов, О.Е. Филиппова // *Высокомолекулярные соединения*. 2000. Т.42, № 12. С. 2328-2352
6. Шлейкин А.Г., Чухно А.С., Шерстнев В.В., Романенко М.С. Кинетика гелеобразования белков (на модельной системе — бычий сывороточный альбумин) // *Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине. Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. А.В. Силина, Л.Б. Гайковой. СПб., 2020. С. 174–180.*
7. Смирнова Н.Н., Смирнов К. В. Особенности термоагрегации бычьего сывороточного альбумина в присутствии сильных полиэлектролитов // *Бутлеровские сообщения*. 2020. Т. 63, № 9. С. 35–42. doi: 10.37952/ROI:jbc-01/20–63-9-35
8. Чухно А.С., Кременевская М.И., Шерстнев В.В., Дмитриева И.Б., Иванова И.С., Попов А.С., Романенко М.С., Жалко М.Е. Исследование специфики механизма образования белково-пористой матрицы на основе бычьего сывороточного альбумина. *Бутлеровские сообщения*. 2022 Т. 69, № 2. С. 127–136. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/22-69-2-127.
9. Токарева М.И., Иванцова М.Н., Миронов М.А. Гетероциклы природного происхождения в качестве нетоксичных реагентов

для сшивки белков и полисахаридов // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2017. Vol. 53, No. 1. P. 21–35.

10. Шерстнев В.В., Чухно А.С., Попов А.С., Иванова И.С., Сучкова К.М., Востряков Е.В. Физико-химические свойства модифицированного бычьего сывороточного альбумина: влияние условий гелеобразования на изоэлектрическую точку и реологию // Бутлеровские сообщения С. 2024. Т. 8. С. 90–102. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-90.

УДК 541.49.183:546.562.723:547.854.5

Шерстнев В.В.¹, Чухно А.С.², Востряков Е.В.³

¹Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

^{2,3}Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова

Санкт-Петербург

133andex133av.sherstnev@spcpu.ru¹; alex-chuhno@yandex.ru²;
vostryakov20@bk.ru³

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОПОЛИМЕРНЫХ
ГИДРОГЕЛЕЙ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА ОСНОВЕ
МОДИФИЦИРОВАННОГО АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ БЫЧЬЕГО
СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА**

Статья посвящена получению и изучению биологических свойств биополимерных гидрогелей. В ходе своей работы, авторы осуществили синтез биополимерных гидрогелей, используя оригинальную методику модификации белка, а также изучили и описали биологические свойства, полученных биополимерных гидрогелей. В настоящее время, такие материалы востребованы в медицине и биотехнологии.

Ключевые слова: биополимерный гидрогель, денатурация, гелеобразование, биodeградируемая матрица, модифицированный альбумин.

Sherstnev V.V.¹, Chukhno A.S.², Vostryakov E.V.³

¹*St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University*

^{2,3}*North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*

St. Petersburg

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF BIOPOLYMER HYDROGELS
SYNTHESIZED ON THE BASIS OF ACETYLCYSTEINE-MODIFIED
BOVINE SERUM ALBUMIN**

The article is devoted to the production and study of biological properties of biopolymer hydrogels. In the course of their work, the authors synthesized biopolymer hydrogels using an original method of protein modification, and also studied and described the biological properties of the obtained biopolymer hydrogels. Currently, such materials are in demand in medicine and biotechnology.

Keywords: *biopolymer hydrogel, denaturation, gelation, biodegradable matrix, modified albumin.*

Введение. Развитие новых технологий в медицине предполагает разработку новых полимерных материалов, обладающих высокой биосовместимостью и биодegradацией. Перспективным видом таких материалов являются биополимерные гидрогели [1].

Гидрогелям характерно разнообразие механических свойств. Эти свойства во многом связаны с их сшитой структурой. Сшивки могут образовываться с участием атомов серы, кислорода, а также некоторых органических соединений, имеющих в своей структуре кратные связи или атомы азота, — например, гетероциклические азотсодержащие соединения [2].

По сравнению с физически сшитыми гидрогелями химически сшитые обладают более высокими механическими свойствами, а процесс получения затрачивает меньше времени. Однако, стоит учитывать, что сшивающие агенты, при помещении гидрогеля в живой организм, могут проявлять токсическое действие [3, 4].

В своей работе для синтеза биополимерных гидрогелей мы использовали бычий сывороточный альбумин. Мы предположили, что можно создать биополимерный гидрогель на основе бычьего сывороточного альбумина, если сначала модифицировать его молекулы ацетилцистеином, а затем «сшить» их между собой с помощью:

- а) дисульфидных связей, — физический метод;
- б) с помощью химического вещества (гистидина), — «сшивающего агента», — применив «поперечную сшивку»; — химический метод [5].

Мы также изучили биологические свойства полученных биополимерных гидрогелей на живой организм, — действие на организм млекопитающего (кролик) [6-8].

Разворачивание исходной структуры молекул БСА, — в виде глобул, — проводили, используя химические вещества (ацетилцистеин и этанол или изопропанол), а затем вызывали агрегацию, — обратный процесс, — сворачивание в глобулы полипептидных цепей белковых молекул под действием физического фактора (температуры) [9].

Если теперь соединить эти глобулы между собой, — либо дисульфидными, либо ковалентными химическими связями, — образуется биополимерный гидрогель, обладающий новыми свойствами, в отличие от водного раствора альбумина. Так как, в процессе «разворачивания-сворачивания» молекул белка произошла их модификация, — присоединение к ним других химических веществ и, следовательно, произошла по-новому «укладка» в глобулу измененной полипептидной цепи [10].

Экспериментальная часть. Целью нашей работы являлось осуществить синтез биополимерных гидрогелей на основе модифицированного ацетилцистеином бычьего сывороточного альбумина (БСА): сшитого с помощью дисульфидных связей и поперечносшитого с помощью сшивающего агента. А также, изучить биологические свойства полученных биополимерных гидрогелей на организм млекопитающего.

В работе были использованы: бычий сывороточный альбумин (БСА). Растворы БСА получали путем растворения лиофилизированного белка в растворе. Этанол или изопропанол, ацетилцистеин, гистидин ($\geq 99,5\%$).

Все использованные в работе реактивы соответствовали марке ч.д.а. Все растворы готовились на бидистиллированной воде. Концентрированные растворы готовились по точной навеске, растворы HCl и KCl готовились из фиксалялов, разбавленные — методом последовательного разведения.

Модификацию БСА осуществляли следующим образом. Навеску БСА — 1,2 г растворяли в 100 мл раствора ацетилцистеина (дистиллированной воды с добавлением точной навески ацетилцистеина — 1,2 г); перемешивание осуществлялось с помощью магнитной мешалки до полного растворения. Полученный раствор сливали в фарфоровую чашу, прогревали и упаривали на 50% по объему. К упаренному раствору БСА добавляли этанол или изопропанол (100 мл) и перемешивали. Затем повторно упаривали до необходимой концентрации.

Для приготовления гидрогелей, — упаривание производили до 20 мл и набирали в пластиковый шприц. В случае синтеза гидрогеля на основе модифицированного БСА, сшитого дисульфидными связями, — шприц с реакционной смесью помещали на сутки в термостат и выдерживали при температуре 80 градусов Цельсия для осуществления процесса сшивки (полимеризации).

В шприц, с реакционной смесью для приготовления гидрогеля на основе поперечносшитого модифицированного БСА, — дополнительно, добавляли 1 мл водного раствора, содержащий 400 мг гистидина и оставляли на сутки полимеризоваться при комнатной температуре.

Для проверки биологического действия гидрогеля как носителя БАВ использовался кролик, массой около 4 кг. Под местной анестезией на предварительно выстриженном участке спины животного были сделаны три отдельные раны. Предварительно заготовленный образец гидрогеля БСА, содержащий раствор лидокаина и хлорида кальция использовали для нанесения на рану подопытному животному, — рана №2. На другую рану наносили фабричный коллагеновый гидрогель «Эмалан», — также содержащий раствор лидокаина и хлорида кальция, — рана №1. На рану №3 ничего не наносилось, — она являлась контрольной. После этого на раны была наложена стерильная бинтовая повязка. Повязки меняли 1 раз в день, на раны наносились соответствующие лекарственные смеси, исключая контрольную.

Для гистологического подтверждения результатов из каждой раны была взята биопсия. Дефекты кожи ушиты лигатурой и

обработаны смесью с гидрогелем БСА, показавшей наилучшие результаты (смесь для раны №2). перевязки с обработкой ран гелем проводили 1 раз в день. Швы были сняты на 10-й день. Через 2 недели (14 дней) дефекты кожи, после взятия биопсии, зажили полностью. Биоптаты были отправлены в гистологическую лабораторию, где были изготовлены препараты, которые консультировал врач-гистолог.

Также, полученный нами образец полимерного гидрогеля БСА был введен в плевральную полость подопытного животного (кролик) в количестве 5 мл. Введение геля производил врач-ветеринар в условиях ветеринарной клиники. До введения, сразу после него и через неделю (7 дней) были выполнены контрольные рентгеновские снимки.

Результаты и их обсуждение. По заключению ветеринарного врача-рентгенолога, ни на одном из контрольных рентгеновских снимков не было выявлено никаких патологических изменений, что свидетельствует о биосовместимости данного биополимерного гидрогеля на основе БСА, модифицированного ацетилцистеином, на организм млекопитающего.

По заключению врача-гистолога, все поверхностные раны на коже у кролика затянулись первичным натяжением, атипичных клеток выявлено не было. В настоящее время кролик жив и здоров.

Выводы. Таким образом, в результате проделанной работы нами были получены биополимерные гидрогели на основе модифицированного ацетилцистеином БСА. О факте модификации свидетельствует изменение заряда внутри белковой молекулы, — по нашему предположению, соединение глобул в гель химическими связями будет происходить между структурами, находящимися внутри, а не снаружи модифицированных молекул БСА.

1. Получен биополимерный гидрогель на основе модифицированного БСА, сшитого дисульфидными связями;

2. Получен биополимерный гидрогель с применением поперечной сшивки химическим веществом, на основе модифицированного ацетилцистеином БСА.

Было установлено, что:

3. При изучении биологического действия того и другого образца гидрогеля, полученные данные свидетельствуют о биосовместимости образцов биополимерного гидрогеля с организмом млекопитающего (кролик).

Синтезированные нами биополимерные гидрогели являются нетоксичными и биосовместимыми с организмом млекопитающего, а после введения в живой организм, через какое-то время, способны полностью деградировать и утилизироваться организмом.

Полученные данные могут быть использованы для дальнейших исследований белково-пористых гелей на основе БСА.

Список литературы

1. Kopecek J. Hydrogel biomaterials: a smart future? // *Biomaterials*. 2007. Vol. 28, No. 34. P. 5185-5192. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.07.044. PMID: 17697712; PMCID: PMC2212614.

2. Лозинский В.И. Новое семейство макропористых и сверхмакропористых материалов биотехнологического назначения — полимерные криогели // *Известия Академии наук. Серия: химическая*. 2008. Т. 5. С. 996–1014.

3. Nalampang, K. Design and preparation of AMPS-based hydrogels for biomedical use as wound dressings / K. Nalampang, N. Suebsanit, C. Witthayaparakorn, and R. Molloy // *Chiang Mai Journal of Science*. 2007. Vol. 34, No. 2. P. 183–189.

4. Павлюченко В.Н., Иванчев С.С. Композиционные полимерные гидрогели // *Высокомолекулярные соединения. Серия А*. 2009. Т. 51. № 7. С. 1075–1109.

5. Гроссберг А.Ю. Физика в мире полимеров. / А.Ю. Гроссберг, А.Р. Хохлов, О.Е. Филиппова // *Высокомолекулярные соединения*. 2000. Т. 42, № 12. С. 2328–2352.

6. Шлейкин А.Г., Чухно А.С., Шерстнев В.В., Романенко М.С. Кинетика гелеобразования белков (на модельной системе — бычий сывороточный альбумин) // *Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине. Сборник научных трудов Всероссийской научно-*

практической конференции с международным участием / под ред. А.В. Силина, Л.Б. Гайковой. СПб., 2020. С. 174-180.

7. Смирнова Н.Н., Смирнов К.В. Особенности термоагрегации бычьего сывороточного альбумина в присутствии сильных полиэлектролитов // Бутлеровские сообщения. 2020. Т. 63, № 9. С. 35–42. doi: 10.37952/ROI:jbc-01/20–63-9-35.

8. Поляничко А.М. и др. Межмолекулярные взаимодействия сывороточного альбумина в растворе // Цитология. 2016. Т. 58, № 9. С. 707–713.

9. Токарева М.И., Иванцова М.Н., Миронов М.А. Гетероциклы природного происхождения в качестве нетоксичных реагентов для сшивки белков и полисахаридов // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2017. Т. 53, № 1. С. 21–35.

10. Шерстнев В.В., Чухно А.С., Попов А.С., Иванова И.С., Сучкова К.М., Востряков Е.В. Физико-химические свойства модифицированного бычьего сывороточного альбумина: влияние условий гелеобразования на изоэлектрическую точку и реологию // Бутлеровские сообщения С. 2024. Т. 8. С. 90–102. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/24-79-8-90.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ

УДК 577.29

*Агарков А.А., Попова Т. Н., Мелихова Е.В., Мануйлова С.Е.,
Иванникова Е.Е.*

*Воронежский государственный университет
Воронеж*

*agalalek@mail.ru; popova@bio.vsu.ru;
ekaterinamelikhova@yandex.ru; ms.ru.2003@mail.ru;
iv.elen2001@mail.ru*

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ТИМОЛА НА АКТИВНОСТЬ НАДФ-ЗАВИСИМОЙ ИЗОЦИТРАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ПОЧКАХ КРЫС С ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ

Установлено, что развитие гентамициновой нефропатии у крыс приводит к уменьшению активности НАДФ-изоцитратдегидрогеназы в почках и сыворотке крови. Введение тимола животным с патологией сопровождалось изменением данного показателя в сторону контроля. По-видимому, тимол, реализуя свой антиоксидантный потенциал, снижал повреждающее действие свободных радикалов на молекулу фермента.

***Ключевые слова:** гентамициновая нефропатия, свободные радикалы, НАДФ-изоцитратдегидрогеназа, антиоксиданты, тимол.*

***Agarkov A.A., Popova T.N., Melikhova E.V., Manuilova S.E.,
Ivannikova E.E.***

*Voronezh State University
Voronezh*

EVALUATION OF THE EFFECT OF THYMOL ON THE ACTIVITY OF NADP ISOCITRATE DEHYDROGENASE IN THE BLOOD SERUM AND KIDNEYS OF RATS WITH GENTAMICIN NEPHROPATHY

It was found that the development of gentamicin nephropathy in rats leads to a decrease in the activity of NADP-isocitrate dehydrogenase in the kidneys and blood serum. The administration of

thymol to animals with pathology was accompanied by a change in this indicator towards control. Apparently, thymol, realizing its antioxidant potential, reduced the damaging effect of free radicals on the enzyme molecule.

Keywords: *gentamicin nephropathy, free radicals, NADP isocitrate dehydrogenase, antioxidants, thymol.*

Известно, что аминогликозиды относятся к препаратам с низким уровнем общей токсичности. Однако для них, в том числе и гентамицина (ГМ), характерны специфические нежелательные реакции. Среди основных называют нефротоксичность, обусловленную тем, что они избирательно накапливаются в эпителиальных клетках коркового слоя почек и могут вызывать структурные и функциональные изменения в проксимальных канальцах. При умеренных дозах происходит набухание эпителия канальцев, при высоких возможно развитие острого канальцевого некроза [1]. Так, ГМ, проникая в клетку путем эндоцитоза, разрушает лизосомы и, высвобождаясь в цитоплазму, действует на митохондрии, нарушая процессы синтеза АТФ и повышая генерацию активных форм кислорода (АФК), что приводит к запуску ряда механизмов, таких как перекисное окисление липидов, денатурация белков, повреждение ДНК. Следствием этих процессов является гибель клетки [2].

Защиту клеток от АФК осуществляет многоуровневая антиоксидантная система (АОС), которая включает в себя как неферментативное, так и ферментативное звено [3].

Для эффективной работы АОС необходим определенный пул восстановительных эквивалентов. НАДФ-изоцитратдегидрогеназа (НАДФ-ИДГ) — фермент, представленный в тканях животных двумя фракциями: митохондриальной и цитоплазматической. Физиологическая роль первой заключается в контроле скорости протекания гликолиза путем изменения количества цитрата и регуляции трансгидрогеназной реакции, в результате которой поддерживается необходимый уровень НАД⁺/НАДН и НАДФ⁺/НАДФН, что оказывает влияние на энергетическую направленность цикла Кребса. Цитоплазматическая НАДФ-ИДГ участвует в генерации НАДФН, который в качестве

восстановительного эквивалента используется во многих биосинтетических реакциях [4], а также для восстановления тиолового антиоксиданта — глутатиона в глутатионредуктазной реакции [5].

Известно, что гентамициновая нефропатия сопровождается развитием оксидативного стресса. При этом собственного антиоксидантного потенциала клетки оказывается недостаточным [6]. Потенциальным решением данной проблемы является использование экзогенных антиоксидантов.

Согласно имеющимся литературным данным, тимол (2-изопропил-5-метилфенол) — компонент эфирного масла тимьяна — обладает антиоксидантными свойствами, направленными как на прямую нейтрализацию АФК, так и на повышение активности эндогенных антиоксидантных ферментов, что может приводить к снижению интенсивности свободнорадикальных процессов [7].

Таким образом, целью настоящего исследования явилось исследование влияния тимола на активность НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы в сыворотке крови и почках крыс с гентамициновой нефропатией.

В качестве объекта исследования использовали самцов белых лабораторных крыс массой 200–250 г, содержащихся в условиях 12-часового светового дня, комнатной температуры и доступа к воде и пище *at libitum*. Все манипуляции, проводимые во время эксперимента, соответствовали требованиям международных правил гуманного отношения к животным.

Для создания модели гентамициновой нефропатии крысам внутрибрюшинно в течение 8 дней утром вводили гентамицин в 0,9% растворе NaCl из расчета 100 мг на 1 кг веса животного. Тимол растворяли в диметилсульфоксиде и вводили перорально в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки в течение 8 дней. Наличие гентамициновой нефропатии подтверждали путем измерения содержания мочевины и белка в сыворотке и моче, клиренса креатинина, а также гистологически. Через 8 дней после начала индуцирования гентамициновой нефропатии животных умерщвляли и использовали для дальнейших исследований.

Эксперимент был проведен на крысах, разделенных на три экспериментальные группы: 1-я группа (n=8) — животные,

содержащиеся на стандартном режиме вивария; 2-я группа (n=16) — крысы с гентамициновой нефропатией; 3-я группа (n=16) — крысы с гентамициновой нефропатией, которым вводился тимол.

Оценку активности НАДФ-ИДГ осуществляли в 50 мМ трис-НС1-буфере (рН 7,8), содержащем 1,5 мМ изоцитрат, 2 мМ $MnCl_2$, 0,4 мМ НАДФ. О скорости ферментативной реакции судили по изменению оптической плотности при 340 нм. За единицу ферментативной активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее образование 1 мкмоль продукта реакции за 1 мин при 25°C. Концентрацию белка оценивали биуретовым методом. Данные обрабатывали с использованием стандартных статистических методов, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Установлено, при гентамициновой нефропатии удельная активность НАДФ-ИДГ в почках и сыворотке крови экспериментальных животных снижалась в 1,4 и 1,3 раза соответственно.

Полагают, что ГМ-индуцированная токсичность связана с повреждением митохондрий почек [6]. Следствием этого может быть угнетение ферментов цикла трикарбоновых кислот, в том числе аконитатгидратазы, продуктом реакции которой является изоцитрат, окислительное декарбоксилирование которого до 2-оксоглутарата осуществляет НАДФ-ИДГ [8]. Кроме того, в условиях формирующегося ОС при данной патологии, активность аконитатгидратазы может снижаться вследствие повреждения молекулы данного фермента АФК [9].

На фоне введения тимола удельная активность фермента в почках и сыворотке крови изменялась в сторону контрольных значений. Вероятно, это может быть связано с ингибирующим действием используемого протектора на скорость реакций свободнорадикального окисления [7]. Известно, что тимол способен ингибировать апоптоз кардиомиоцитов, снижая выраженность оксидативного стресса у крыс с инфарктом миокарда, вызванным изопреналином. Кроме того, тимол проявляет мощную антиоксидантную активность в отношении супероксидного и гидроксильного радикалов [10].

Таким образом, тимол, реализуя свой антиоксидантный потенциал, мог снижать повреждающее действие АФК на молекулу НАДФ-ИДГ. Также, вероятно, увеличению скорости НАДФ-ИДГ-реакции могло способствовать снижение повреждающего действия АФК на молекулу аконитатгидратазы.

Список литературы

1. Остроумова О.Д., Клепикова М.В., Джамихов К.К., Дё В.А., Литвинова С.Н. Лекарственно-индуцированный острый канальцевый некроз // Сибирское медицинское обозрение. 2020. №5 (125). С. 49-62.

2. Bulboacă A.E. Protective Effects of Liposomal Curcumin on Oxidative Stress/Antioxidant Imbalance, Metalloproteinases 2 and -9, Histological Changes and Renal Function in Experimental Nephrotoxicity Induced by Gentamicin / A. E. Bulboacă, A. Porfire, S. D. Bolboacă, C. A. Nicula, D. G. Feștilă, // Antioxidants. 2021. Vol. 10. №2. P. 325.

3. Андреев, А.Ю. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях (обзор) / А. Ю. Андреев, Ю. Е. Кушнарера, А. А. Старков // Биохимия. 2005. Т. 70, № 2. С. 246-264.

4. Рахманова Т.И., Попова Т.Н., Артюхов В.Г., Семенихина А.В., Матасова Л.В. Некоторые особенности функционирования НАДФ-изоцитратдегидрогеназы в митохондриях гепатоцитов крысы // Вестник ВГУ. 2001. № 2. С. 142.

5. Особенности функционирования глутатионовой системы и NADPH-генерирующих ферментов в крови больных лекарственным гепатитом при комбинированной терапии с эпифамином / С. С. Попов, К. К. Шульгин, А. Н. Пашков [и др.] // Биомедицинская химия. 2012. Т. 58, №1. С. 104-111.

6. Aminoglycoside: activity and resistance / M.P. Mingeot-Leclercq [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. — 1999. № 43. P. 727–737.

7. Nagoor Meeran M. F., Prince P. S. Protective effects of thymol on altered plasma lipid peroxidation and nonenzymic antioxidants in isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. J. Biochem. Mol. Toxicol. 2012. Vol. 26. P. 368–373.

8. Gentamicin rapidly inhibits mitochondrial metabolism in high-frequency cochlear outer hair cells / Heather C Jensen-Smith [et al.] // PLoS One. 2012. Vol. 7, № 6. P. 38471.

9. Матасова Л.В., Попова Т.Н. Аконитаза млекопитающих при окислительном стрессе // Биохимия. 2008. Т.73, №9. С.1189–1198.

10. Liu Y. et al. Protective Effects of Natural Antioxidants on Inflammatory Bowel Disease: Thymol and Its Pharmacological Properties // Antioxidants. 2022. Т. 11. № 10. С. 1947.

УДК 612.822;615.21

**Баюнова Л.В., Захарова И.О., Третьякова А.Д.,
Шпаков А.О., Аврова Н.Ф.**

*Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии наук
Санкт-Петербург
bayunoval@mail.ru*

**ВЛИЯНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМОГО ИНСУЛИНА
НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ АУТОФАГИИ И БИОГЕНЕЗА
МИТОХОНДРИЙ В ЛОБНОЙ КОРЕ ПРИ ИШЕМИИ
И РЕПЕРФУЗИИ МОЗГА КРЫС**

Данные свидетельствуют о способности интраназально вводимого инсулина модулировать уровни экспрессии генов белков-маркеров аутофагии и биогенеза митохондрий в лобной коре крыс при двухсосудистой ишемии переднего мозга в сочетании с гипотензией и последующей реперфузией.

Ключевые слова: ишемия мозга, инсулин, экспрессия генов.

**Bayunova L.V., Zakharova I.O., Tretyakova A.D.,
Shpakov A.O., Avrova N.F.**

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences
St. Petersburg*

**EFFECT OF INTRANASALLY ADMINISTERED INSULIN ON
THE EXPRESSION OF AUTOPHAGY AND MITOCHONDRIAL
BIOGENESIS GENES IN THE FRONTAL CORTEX DURING RAT
BRAIN ISCHEMIA AND REPERFUSION**

Data indicate the ability of intranasally administered insulin to modulate the expression of genes of autophagy and mitochondrial biogenesis marker proteins in the frontal cortex of rats during two-

vessel forebrain ischemia combined with hypotension and subsequent reperfusion.

Keywords: *cerebral ischemia, insulin, gene expression.*

Апоптоз, некроз и аутофагия являются основными причинами гибели нервных клеток при ишемии и реперфузии мозга, имеющими место в ходе развития инсульта [1]. Успешное лечение нарушений мозгового кровообращения, прежде всего ишемического инсульта мозга, возможно при использовании в качестве терапевтических мишеней путей, приводящих как к апоптотической, так и к аутофагической гибели нейронов, в том числе в ходе активации процесса митофагии, специально направленного на удаление поврежденных митохондрий [2]. Митохондрии являются местом генерации активных форм кислорода (АФК), и нарушение функциональной активности этих органелл (в том числе и сбои в их биогенезе) вследствие чрезмерной активации образования АФК в нервных клетках является одной из основных причин гибели митохондрий при поражениях мозга различного генеза.

Понимание влияния нейропротекторов на механизмы гибели нейронов необходимо для разработки новых подходов к лечению ишемических поражений мозга [2]. Инсулин относится к числу ключевых нейропротекторов и нейротрофических факторов, играющих важную роль в жизнедеятельности нервных клеток мозга. Его интраназальное введение позволяет доставлять гормон в мозг в достаточном количестве, минуя гематоэнцефалический барьер. Инсулин снижает как аутофагическую, так и апоптотическую гибель нейронов в гиппокампе и лобной коре при двухсосудистой ишемии переднего мозга крыс в сочетании с гипотензией и последующей реперфузией [3, 4].

Целью работы являлась оценка уровня экспрессии ключевых генов аутофагии и ряда транскрипционных факторов в лобной коре при двухсосудистой ишемии переднего мозга и последующей реперфузии в течение 1 ч, а также влияния на эти показатели инсулина, интраназально введенного крысам за 30 мин до ишемического эпизода.

У наркотизированных самцов крыс (линия Вистар) двухсосудистую ишемию переднего мозга вызывали путем

пережатия на 10 мин каротидных артерий в сочетании с гипотензией — снижением артериального давления до 40 мм ртутного столба путем отбора крови в шприц с гепарином. Реперфузию мозга проводили, разжимая каротидные артерии и возвращая кровь в кровяное русло.

Определение относительного уровня мРНК выбранных генов в образцах лобной коры мозга выполнялось с помощью количественной ПЦР в реальном времени. Экстракцию тотальной РНК проводили с помощью реактива RNA Extract. Кодирующую ДНК синтезировали с помощью набора «MMLV RT Kit» («Евроген», Россия). Амплификацию проводили на приборе «CFX96 Real-Time System» («Bio-Rad», США), используя среду qPCRmix-HS SYBR+LowROX («Евроген», Россия). Экспрессию генов, кодирующих белки интереса, и референсных генов *18S rRNA* и *Actin B* определяли с помощью праймеров, представленных в табл. 1.

Таблица 1

Последовательности использованных олигонуклеотидных праймеров

Ген	For 5'–3'	Rev 5'–3'
<i>18S rRNA</i>	GGACACGGACAGGATTGACA	ACCCACGGAATCGAGAAAGA
<i>Actin B</i>	GCGAGTACAACCTTCTTGACG	CTGACCCATACCCACCATCAC
<i>LC3B</i>	AAAAGGGACGTTACCAGCGG	CATGGCACTCAGTTTCTGGC
<i>P62</i>	GCTCATCTTTCCCAACCCCT	CTGATGGAGCAGAAGCCGAC
<i>NRF1</i>	AGAGACAGCAGACACGGTTG	GCTGCGCAAAACTTAAA
<i>NRF2α</i>	TGTTTGCTGGGCTCTGTAG	GTGGTTAGCTAGCCGTGTGT
<i>TFAM</i>	GTTTCGTGCGGGTTTGTA	GAAACTGCAATGGCTCTGCC
<i>FoxO3</i>	CGGGCAGCCGAGGAAATGTT	TGTTGCTGTGCGCCCTTATCCTT
<i>HIF1α</i>	CGAAGAACTCTCAGCCACAG	AGCTCGTGTCCCTCAGATTCC
<i>PGC1α</i>	ACGCAGTGCTACCTGAGAGA	TTGACTGGGATGACCGAA

Результаты ПЦР анализировали с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager 3.1. Исследовали гены, кодирующие маркеры аутофагии — белок легкой цепи 3 (LC3-II) и убиквитин-связывающий каркасный белок (p62/SQSTM1); регуляторы биогенеза митохондрий — ядерные респираторные факторы 1 и 2 (NRF-1, NRF-2) и транскрипционный фактор А митохондрий (TFAM); транскрипционный фактор Forkhead box O3 (FOXO3); фактор-1, индуцированный гипоксией (HIF-1);

белок-коактиватор ядерного рецептора γ , активируемого пролифераторами пероксисом (PGC-1 α). Экспрессию гена NRF-2 оценивали по экспрессии его ДНК-связывающей субъединицы — NRF-2 α , а гена HIF-1 — по экспрессии его основной регуляторной субъединицы — HIF-1 α . Результаты выражали в условных единицах, принимая экспрессию каждого гена в группе ложно-оперированных крыс за 1.0. Ишемия в течение 10 мин и последующая реперфузия в течение 1 ч не оказывали существенного влияния на экспрессию в лобной коре основного маркера аутофагии LC3B. В то же время предобработка крыс инсулином привела к повышению этого показателя (табл. 2).

Таблица 2

Уровни экспрессии генов аутофагии и ряда транскрипционных факторов в лобной коре мозга крыс под влиянием интраназально вводимого инсулина при ишемии и реперфузии переднего мозга

Ген	Ложно-оперированные	Ишемия/реперфузия	Ложно-оперированные +инсулин	Ишемия/реперфузия + инсулин
LC3B	1,00±0,14	0,90±0,07	1,34±0,10 ^{^^}	1,32±0,07 ^{^^}
P62	1,00±0,16	1,06±0,07	1,27±0,12	1,28±0,07
NRF1	1,00±0,14	1,04±0,15	1,18±0,14	1,09±0,21
NRF2 α	1,00±0,15	0,67±0,08*	0,93±0,05	0,98±0,16 [^]
TFAM	1,00±0,10	1,06±0,12	1,17±0,07	1,06±0,13
FoxO3	1,00±0,15	0,73±0,05*	1,63±0,20 [^]	2,06±0,66 ^{*^}
HIF1 α	1,00±0,09	0,99±0,11	1,16±0,11	1,22±0,08 [^]
PGC1 α	1,00±0,11	0,74±0,07*	1,09±0,11	0,97±0,09 [^]

Примечание: различия достоверны согласно *t*-критерию Стьюдента по сравнению с ложно-оперированными крысами, * — $p < 0,05$; с крысами с ишемией и реперфузией, [^] — $p < 0,05$; ^{^^} — $p < 0,01$.

Изменений экспрессии гена *rb2*, которая также используется для характеристики процесса и отрицательно коррелирует с интенсивностью аутофагии, выявлено не было. По данным литературы отчетливо прослеживается участие аутофагических процессов в гибели нервных клеток при ишемии и реперфузии головного мозга [1]. Зачастую защитные свойства многих нейропротекторов при этой патологии зависят от ингибирования

ими аутофагических процессов. Так, N-ацетилсеротонин обеспечивает нейропротекцию посредством ингибирования путей, приводящих к гибели митохондрий и активации аутофагии в экспериментальных моделях ишемического повреждения [5]. В то же время, активация аутофагии в мозге при некоторых видах ишемического воздействия может выполнять защитную функцию. Так, ресвератрол активирует нейрональную аутофагию через модуляцию активности АМФ-активируемой протеинкиназы в ишемизированном мозге [6]. Наши данные по влиянию инсулина на экспрессию *LC3B* и *p62* в коре мозга не находятся в противоречии с приведенными данными, но требуют дополнительных исследований в условиях более жесткой ишемии и/или более длительной реперфузии. Наши данные демонстрируют достоверно более низкий уровень экспрессии *NRF2α* и *PGC1α* (о котором судили по содержанию соответствующих мРНК) у крыс после ишемии/реперфузии по сравнению с ложно-оперированными животными и повышение этого показателя до контрольного уровня у крыс, перенесших ишемию/реперфузию и предварительно обработанных инсулином. Изменений уровней экспрессии *NRF1* и *TFAM* выявлено не было. Ядерные респираторные факторы 1 и 2 (*NRF1* и *NRF2*) и *TFAM* являются важными регуляторами биогенеза митохондрий, а белок-коактиватор *PGC-1α* запускает экспрессию ряда факторов транскрипции (в том числе *TFAM*), которые активируют гены ядерного и митохондриального генома, необходимые для построения митохондрий [7]. Более того, в настоящее время *PGC-1α* рассматривается как одна из мишеней для лечения заболеваний, обусловленных нарушением биогенеза митохондрий [8].

FOXO3 регулирует способность нейронов к регенерации, тормозя деление стволовых клеток до тех пор, пока окружающая среда не станет благоприятной для выживания новых нейронов. Так, новорожденные мыши-нокауты по гену *FoxO3* не могут справиться с окислительным стрессом и погибают [9]. Нами показано, что экспрессия гена *FoxO3* достоверно ниже у крыс после ишемии/реперфузии по сравнению с ложно-оперированными крысами. Животные, которым интраназально вводили инсулин перед ишемическим эпизодом, имели повышенный уровень экспрессии этого гена по сравнению с

крысами после ишемии/реперфузии и ложно-оперированными животными.

Фактор, индуцированный гипоксией (HIF-1), участвует в защитных реакциях организма при недостатке кислорода и регулирует экспрессию ряда генов в этих условиях, обеспечивая тем самым выживание клеток в узком диапазоне концентраций кислорода [10]. Наши данные демонстрируют более высокий уровень экспрессии гена *HIF1α* в лобной коре мозга крыс, получавших интраназально инсулин до ишемического эпизода по сравнению с крысами, перенесшими ишемию/реперфузию без введения инсулина.

Полученные результаты указывают на модуляцию интраназально вводимым инсулином экспрессии генов, кодирующих маркеры аутофагии и биогенеза митохондрий, у крыс с ишемией/реперфузией головного мозга, что может вносить значимый вклад в механизмы нейропротекторного действия инсулина при нарушениях функций мозга в условиях ишемических воздействий.

Работа поддержана ГЗ ИЭФБ РАН № 075-00264-24-00.

Список литературы

1. Луговая А.В., Эмануэль В.С., Артемова А.В., Митрейкин В.Ф. Современные подходы к оценке биологических маркеров аутофагии и апоптоза при остром ишемическом инсульте// Современные проблемы науки и образования. 2020. С. 159-174. doi: 10.17513/spno.30017
2. Nabavi S.F., Sureda A., Sanches-Silva A., Pandima D.K., Ahmed T., Shahid M. Novel therapeutic strategies for stroke: the role of autophagy// Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. 2019. V. 56. № 3. P. 182–199. doi:10.1080/10408363.2019.1575333
3. Фокина Е.А., Захарова И.О., Баюнова Л.В., Аврова Д.К., Илясов И.О., Аврова Н.Ф. Уменьшение аутофагической и апоптотической гибели нейронов в СА1 районе гиппокампа и лобной коре мозга крыс введенным интраназально инсулином при ишемии и реперфузии переднего мозга // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2023. Т. 59. №1. С. 43-53. doi: 10.31857/S0044452923010047.
4. Zakharova I.O., Bayunova L.V., Avrova D.K., Tretyakova A.D., Shpakov A.O., Avrova N.F. The Autophagic and Apoptotic Death of

Forebrain Neurons of Rats with Global Brain Ischemia Is Diminished by the Intranasal Administration of Insulin: Possible Mechanism of Its Action// *Current Issues in Molecular Biology*. 2024. V. 46. №7. P. 6580–6599. doi: 10.3390/cimb46070392.

5. Zhou H., Wang J., Jiang J., Stavrovskaya I.G., Li M., Li W., Wu Q., Zhang X., Luo C., Zhou S., Sirianni A.C., Sarkar S., Kristal B.S., Friedlander R.M., Wang X. N-acetyl-serotonin offers neuroprotection through inhibiting mitochondrial death pathways and autophagic activation in experimental models of ischemic injury// *The Journal of neuroscience*. 2014. V. 34. №8. P. 2967-2978. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1948-13.2014

6. Pineda-Ramírez N., Alquisiras-Burgos I., Ortiz-Plata A., Ruiz-Tachiquín M.-E., Espinoza-Rojo M., Aguilera P. (2020) Resveratrol activates neuronal autophagy through AMPK in the ischemic brain// *Molecular neurobiology*. 2020. V. 57. №2. P. 1055-1069. doi: 10.1007/s12035-019-01803-6

7. Whitaker R.M. Corum D., Beeson C.C., Schnellmann R.G. Mitochondrial Biogenesis as a Pharmacological Target: A New Approach to Acute and Chronic Diseases// *Annual review of pharmacology and toxicology*. V. 56. P. 229-249. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010715-103155

8. Schell M., Wardelmann K., Kleinridders A. Untangling the effect of insulin action on brain mitochondria and metabolism// *Journal of neuroendocrinology*. 2021. V. 33. №4. e12932. doi: 10.1111/jne.12932

9. Hwang I., Uchida H., Dai Z., Li F., Sanchez T., Locasale J.W., Cantley L.C., Zheng H., Paik J. Cellular stress signaling activates type-I IFN response through FOXO3-regulated lamin posttranslational modification// *Nature communications*. 2021. V. 12. №1. P. 640. doi: 10.1038/s41467-020-20839-0

10. Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Абросимова Е.Е., Тюренков И.Н. Фактор, индуцируемый гипоксией и ингибиторы пролилгидроксилазы — новая фармакологическая мишень и класс лекарственных препаратов, стимулирующих эритропоэз и не только// *Успехи физиологических наук*. 2022. Т. 53. № 3. С. 15-44. doi: 10.31857/S0301179822030067

УДК [577.121:576.343]:616.34

Белоус Е.М.

Гомельский государственный медицинский университет

Гомель, Беларусь

katy.belous@mail.ru

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ ЭНТЕРОЦИТОВ

Энтероциты представляют собой эпителиальные клетки, составляющие поверхность кишечника. Они участвуют в поддержании здоровья человека, влияя на процессы пищеварения, усвоение питательных веществ, функционирование иммунной системы и, соответственно, на общий метаболизм организма.

Ключевые слова: *энтероциты, кишечник, метаболизм, энергия.*

Belous E.M.

Gomel State Medical University

Gomel, Belarus

ENERGY METABOLISM OF ENTEROCYTES

Enterocytes are epithelial cells that make up the surface of the intestine. They are involved in maintaining human health by influencing the processes of digestion, absorption of nutrients, the functioning of the immune system and, accordingly, the overall metabolism of the body.

Keywords: *enterocytes, intestines, metabolism, energy.*

Энтероциты обладают уникальной структурой и функциями, которые способствуют эффективному процессу пищеварения и всасывания. На их поверхности находятся микроворсинки, значительно увеличивающие площадь клеток, что позволяет максимально эффективно поглощать питательные вещества из пищи. Микроворсинки и щетинки помогают удерживать и перемещать пищевые частицы, что улучшает всасывание питательных веществ. Транспортные белки, содержащиеся в энтероцитах, активно переносят питательные вещества через клеточные мембраны. Процессы пищеварения и усвоения могут регулировать различные гормоны и ферменты, выделяющиеся в энтероцитах. Благодаря своей барьерной функции, они предотвращают попадание патогенных микроорганизмов и токсинов

в организм, а также способствуют поддержанию гомеостаза в кишечнике и функционированию иммунной системы [1].

Энтероциты для выполнения своих функций требуют постоянного источника энергии, которую получают через строго регулируемый метаболизм, адаптируемый в зависимости от условий.

Энергетический метаболизм — это процесс преобразования пищи в энергию, необходимую для поддержания жизнедеятельности организма. Он включает несколько основных этапов: пищеварение, абсорбцию, транспортирование и окисление питательных веществ. Пищеварение начинается с разложения пищи на более простые молекулы при помощи ферментов, выделяемых в пищеварительной системе. Эти молекулы затем абсорбируются через стенки желудочно-кишечного тракта и попадают в кровь для дальнейшего распределения по организму. Транспортировка питательных веществ осуществляется кровью, которая доставляет глюкозу, аминокислоты и жирные кислоты к клеткам, где они окисляются в митохондриях для выработки энергии. Глюкоза является основным источником энергии для большинства клеток, а окисление питательных веществ в митохондриях, происходящее с участием кислорода, называется аэробным окислением. Основным энергетическим носителем в клетке является АТФ (аденозинтрифосфат).

Гликолиз, окислительное фосфорилирование в митохондриях, β -окисление жирных кислот и метаболизм аминокислот являются метаболическими путями для получения энергии, которую могут использовать энтероциты. Нарушения в энергетическом метаболизме могут привести к различным патологиям, включая синдром раздраженного кишечника, целиакию и воспалительные заболевания кишечника [2].

Энтероциты обладают рядом механизмов антиоксидантной защиты, которые помогают нейтрализовать избыток активных форм кислорода (АФК) и поддерживать здоровый метаболический баланс. АФК — это молекулы, содержащие кислород, которые имеют высокую реакционную способность. Они включают супероксид, пероксид водорода и гидроксильный радикал. АФК могут служить сигнальными молекулами,

регулируя клеточные функции, такие как клеточное деление, дифференцировка и апоптоз. Избыточное количество АФК может привести к окислительному стрессу, что может повреждать клеточные компоненты (липиды, белки, ДНК) и способствовать развитию различных заболеваний, включая воспалительные и метаболические расстройства [3-4].

Облучение может повредить митохондрии в энтероцитах, нарушая их энергетический метаболизм, что может привести к: уменьшению запасов АТФ, нарушению ионного транспорта через клеточные мембраны, нарушению синтеза белка и других клеточных процессов. Разработка стратегий защиты здоровых клеток от повреждения во время лучевой терапии, разработка лекарств для улучшения восстановления после повреждения, вызванного облучением — все это являются важными задачами на сегодняшний день [5].

Вывод. Изучение энергетического метаболизма энтероцитов имеет важное значение для решения широкого круга задач в медицине, сельском хозяйстве и биотехнологии. Дальнейшие исследования в данной области могут привести к разработке новых терапевтических подходов и технологий, способствующих повышению здоровья и благополучия людей.

Список литературы

1. Rana Al-Sadi Mechanism of IL-1beta-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability / Rana Al-Sadi, Dongmei Ye, Karol Dokladny, Thomas Y. Ma // The journal of immunology. 2012. №180(8). P. 5653–5661.
2. Berg J.M., Tymoczko J.L., Gatto G.J., Stryer L. Biochemistry. 8th edition. New York: W.H. Freeman, 2015. 1227 p.
3. Белоус Е. М., Айснер А. Д. Характеристика интенсивности тканевого дыхания в отделах тонкого кишечника // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии. 2024: сборник материалов республиканской научно-практической конференции, Гродно, 24 мая 2024 года. Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2024. С. 120–125.
4. Белоус Е. М. Синьковская К. Д. Образование активных форм кислорода в клетках. Роль митохондрий // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии. 2024: сборник материалов республиканской научно-практической конференции,

Гродно, 24 мая 2024 года. Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2024. С. 129-136.

5. Белоус Е. М., Мышковец Н. С., Логвинович О. С., Литвинчук А. В., Алексейко Л. Н. Изучение дыхательной активности ткани тонкого кишечника при влиянии внутреннего облучения // Биохимия и молекулярная биология. 2024.– №1(4). Приложение. С. 16-17.

УДК 577.17

**Деркач К.В.,¹ Басова Н.Е.,¹ Сорокоумов В.Н.,²
Федорчук И.В.,¹ Шпаков А.О.¹**

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии наук,*

²*Институт химии, Санкт-Петербургский государственный
университет
Санкт-Петербург
derkach_k@list.ru*

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ТИРОЗИНФОСФАТАЗЫ 1В НА
ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ТИРЕОИДНОЙ И ГОНАДНОЙ
СИСТЕМ У САМЦОВ КРЫС С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ
СИНДРОМОМ**

Ингибитор тирозинфосфатазы 1В (PI04), разработанный нами на основе 4-оксо-1,4-дигидроциннолина, нормализовал массу тела и метаболические показатели у самцов крыс с метаболическим синдромом (МС). При этом он разнонаправленно влиял на функции тиреоидной и гонадной систем у МС-крыс, нормализуя уровень трийодтиронина в крови и его соотношение с тиреотропным гормоном, но не влияя на андрогенный дефицит.

Ключевые слова: *ингибитор тирозинфосфатазы, тестостерон, тиреоидный гормон, тиреотропный гормон, метаболический синдром.*

**Derkach K.V.,¹ Basova N.E.,¹ Sorokoumov V.N.,²
Fedorchuk I.V.,¹ Shpakov A.O.¹**

¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences
St. Petersburg*

**THE EFFECT OF TYROSINE PHOSPHATASE 1B INHIBITOR ON
THE HORMONAL STATUS OF THE THYROID AND GONADAL
SYSTEMS IN MALE RATS WITH METABOLIC SYNDROME**

The tyrosine phosphatase 1B inhibitor (PI04), developed by us on the basis of 4-oxo-1,4-dihydrocinnoline, normalized the body weight and metabolic parameters in male rats with metabolic syndrome (MS). At the same time, it had a multidirectional effect on the functions of the thyroid and gonadal systems in MS rats, normalizing the blood level of triiodothyronine and its ratio with thyroid-stimulating hormone, but does not affect androgen deficiency.

Keywords: *tyrosine phosphatase inhibitor, testosterone, thyroid hormone, thyroid-stimulating hormone, metabolic syndrome*

Введение. В последние годы все больший интерес представляют специфичные усилители инсулинового и лептинового сигнала, которые повышают чувствительность тканей, включая структуры мозга, к регуляторному воздействию инсулина и лептина. В условиях метаболического синдрома (МС) сигнальные пути инсулина и лептина претерпевают значительные изменения, что приводит к инсулиновой и лептиновой резистентности и лежит в основе этиологии и патогенеза как МС, так и ряда других метаболических расстройств. Одними из ключевых регуляторов инсулинового и лептинового сигналинга являются тирозиновые фосфатазы, такие как фосфотирозинфосфатаза 1В (РТР1В) и Т-клеточная фосфотирозинфосфатаза (ТСРТР) [1,2]. В основе их действия лежит дефосфорилирование компонентов инсулиновых и лептиновых сигнальных путей (рецепторы, белки-субстраты инсулинового рецептора), следствием чего является ослабление чувствительности тканей-мишеней к инсулину и лептину. Соответственно, снижение активности РТР1В и ТСРТР вызывает обратный эффект, усиливая инсулиновый и лептиновый сигналинг и способствуя нормализации зависимых от него метаболических и гормональных показателей [3]. Однако эффекты ингибиторов РТР1В и ТСРТР на гормональный статус тиреоидной и гонадной систем при метаболических и

эндокринных расстройствах в настоящее время не изучены. При этом получены свидетельства того, что инсулин и лептин непосредственно влияют на все основные звенья гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной и гипоталамо-гипофизарно-гонадной осей [4,5], вследствие чего имеются основания полагать, что ингибиторы тирозиновых фосфатаз могут оказывать регуляторное влияние на активность этих осей. В соответствии с вышесказанным, целью работы было изучить влияние PI04, разработанного нами ингибитора РТР1В, на уровни гормонов тиреоидной и гонадной систем у самцов крыс с MC, индуцированным высокожировой и высокоуглеводной диетами.

Материал и методы. Для экспериментов использовали половозрелых самцов крыс Вистар, которых содержали в стандартных условиях вивария. Все процедуры осуществляли в соответствии с требованиями локального этического комитета ИЭФБ РАН и European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС). MC вызывали переводом 26-дневных крысят на диету, которая включала потребление вместо воды 30% раствора сахарозы и маргарина, источника насыщенных жиров, в количестве 5 г/крысу/сутки в дополнение к стандартному сухому корму. Через три месяца после начала диеты на основе измерения массы тела и уровней глюкозы в глюкозотолерантном тесте (ГТТ, мониторинг в течение 120 мин после в/б введения 2 г/кг глюкозы), отбирали животных с признаками MC, рандомизировали их на группы и начинали обработку PI04. Синтез и характеристику PI04 проводили, как описано ранее [6]. Формировали следующие группы (в каждой по 5 крыс) — контроль (стандартная диета, К), MC без обработки PI04 (MC) и MC с девятидневной обработкой PI04 в суточной дозе 12 мг/кг (MC-Инг). За два дня до окончания лечения повторно проводили ГТТ с оценкой уровня глюкозы, а также через 120 мин измеряли уровни инсулина и лептина. Концентрацию инсулина и лептина оценивали с помощью ИФА-наборов Rat Insulin ELISA («Mercodia», Швеция) и ELISA for Leptin, Rat («Cloud-Clone Corp.», США), как описано ранее [7]. В конце эксперимента у животных забирали кровь для определения уровней общего и свободного тироксина (fT4, tT4), общего и свободного трийодтиронина (fT3, tT3), тестостерона, тиреотропного (ТТГ) и лютеинизирующего гормонов (ЛГ), для

чего использовали наборы фирмы «Иммунотех» (Россия) и «Cusabio Biotech Co., Ltd.» (КНР).

Статистический анализ проводили, используя программное обеспечение «Microsoft Office Excel 2007» (США), результаты представляли как $M \pm SEM$. Нормальность распределения оценивали критерием Шапиро-Уилка, считая достоверными различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У крыс группы МС отмечались повышенная масса тела, нарушенная толерантность к глюкозе, оцениваемая по повышенному значению AUC(0–120) для глюкозных концентрационных кривых в ГТТ, гиперинсулинемия и гиперлептинемия, как базовые, так и через 120 мин после нагрузки глюкозой (табл. 1). В группе МС-Инг наблюдали снижение массы тела, улучшение толерантности к глюкозе и ослабление гиперинсулинемии и гиперлептинемии (табл. 1).

Таблица 1

Масса тела, значение AUC(0–120), уровни лептина и инсулина в крови у крыс с диета-индуцированным МС и влияние на них девятидневной обработки Р104 (12 мг/кг/сутки, в/б)

Показатель	К	МС	МС+Инг
Масса тела, г	386±9	443±14*	380±13#
AUC(0–120), отн.ед.	909±39	1498±30*	1023±37#
Инсулин до ГТТ, нг/мл	0.55±0.10	1.22±0.16*	0.59±0,09#
Инсулин, 120 мин, нг/мл	0.69±0.11	2.07±0.24*	1.03±0,08*#
Лептин до ГТТ, нг/мл	0.93±0.12	2.98±0.27*	1.24±0.15#
Лептин, 120 мин, нг/мл	1.26±0.17	7.55±0.67*	2.26±0.16*#

Примечание. Различия значимы при $p < 0,05$: * — с группой К, # — с группой МС. $M \pm SEM$, $n=5$ в каждой группе.

Эти данные указывают на то, что Р104, ингибируя активность РТР1В в тканях-мишенях, восстанавливает их чувствительность к

инсулину и лептину. Наряду с этим, улучшая чувствительность гипоталамических нейронов к этим гормонам, P104 способствует нормализации центральной регуляции пищевого поведения и энергетического обмена, поскольку инсулиновая и лептиновая системы в гипоталамусе непосредственно вовлечены в контроль баланса орексигенных и анорексигенных влияний, а также липидного и углеводного обмена в печени и жировой ткани.

В гипоталамусе инсулин и лептин регулируют активность гипоталамических звеньев тиреоидной и гонадной осей, через которые может осуществляться контроль массы тела, жировой ткани и метаболических показателей [5, 8]. Известно, что тиреоидные гормоны непосредственно вовлечены в контроль термогенеза адипоцитами бурого жира [9], а андрогены играют важную роль в метаболизме мышечной ткани и регуляции липолиза [10]. У крыс с MC отмечали значимое снижение уровней tT3, fT3 и тестостерона в крови, а также снижение соотношений tT3/ТТГ и тестостерон/ЛГ (табл. 2).

Таблица 2

Уровни тиреоидных гормонов, тестостерона и гипофизарных гликопротеиновых гормонов (ТТГ, ЛГ) и их соотношения в крови самцов крыс с MC и влияние на них обработки P104 (12 мг/кг/сутки, в/б)

Показатель	К	MC	MC+Инг
fT4, пМ	38,1±1,8	36,3±2,0	35,4±2,2
tT4, нМ	59,6±4,3	51,7±5,8	53,0±3,9
fT3, пМ	3,14±0,13	2,21±0,16*	3,07±0,15#
tT3, нМ	2,41±0,11	1,52±0,09*	2,18±0,07#
ТТГ, мкЕД/мл	1,01±0,18	1,38±0,16	0,96±0,11
tT3/ТТГ	2,36±0,19	1,14±0,15*	2,33±0,17#
Тестостерон, нМ	9,55±0,89	5,06±0,44*	5,29±0,57*
ЛГ, пг/мл	1,53±0,29	1,79±0,21	2,34±0,48
Тестостерон/ЛГ	6,17±0,58	2,81±0,36*	2,16±0,37*

Примечание. Различия значимы при $p < 0,05$: * — с группой К, # — с группой MC. $M \pm SEM$, $n=5$ в каждой группе.

Обработка крыс P104 приводила к нормализации уровня T3 и его соотношений с ТТГ (см. табл. 2). Поскольку дефицит T3 ассоциирован с развитием ожирения и с дисбалансом обменных

процессов, то индуцированное P104 восстановление тиреоидного статуса может быть одним из механизмов нормализации метаболических показателей у MC-крыс. В то же время, P104 не приводил к нормализации сниженного при СД2 уровня тестостерона в крови, и в еще большей степени снижал соотношение тестостерона и ЛГ (табл. 2). Это может быть обусловлено либо различным влиянием P104 на гипоталамические звенья тиреоидной и гонадной осей, либо различиями его эффектов на функциональную активность периферических звеньев этих осей.

Таким образом, ингибитор PTP1B при длительном введении самцам крыс с диета-индуцированным MC не только нормализует у них массу тела, глюкозный гомеостаз и чувствительность к лептину и инсулину, но и восстанавливает функциональную активность тиреоидной системы. Однако при этом он не оказывает восстанавливающего эффекта на сниженный при MC андрогенный статус.

Работа поддержана государственным заданием № 075-00264-24-00 (ИЭФБ РАН).

Список литературы

1. Bakke J., Haj F. G. Protein-tyrosine phosphatase 1B substrates and metabolic regulation // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2015. Т. 37. С. 58–65.
2. Loh K. et al. Elevated Hypothalamic TCPTP in Obesity Contributes to Cellular Leptin Resistance // *Cell Metab.* 2022. Т. 34. № 11. С. 1892.
3. Liu R. et al. Human Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B): From Structure to Clinical Inhibitor Perspectives // *IJMS.* 2022. Т. 23. № 13. С. 7027.
4. Derkach K. V. et al. The Influence of Intranasal Insulin on Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis in Normal and Diabetic Rats // *Horm. Metab. Res.* 2015. Т. 47. № 12. С. 916–924.
5. George B. T. et al. The Molecular Basis of Male Infertility in Obesity: A Literature Review // *IJMS.* 2023. Т. 25. № 1. С. 179.
6. Zakharova I. O. et al. 4-Oxo-1,4-dihydrocinnoline derivative with phosphatase 1B inhibitor activity enhances leptin signal transduction in hypothalamic neurons // *J. Evol. Biochem. Phys.* 2018. Т. 54. № 4. С. 273–280.

7. Derkach K. et al. The evidence of metabolic-improving effect of metformin in Ay/a mice with genetically-induced melanocortin obesity and the contribution of hypothalamic mechanisms to this effect // PLoS One. 2019. Т. 14. № 3. С. e0213779.

8. Genchi V. A. et al. Adipose Tissue Dysfunction and Obesity-Related Male Hypogonadism // IJMS. 2022. Т. 23. № 15. С. 8194.

9. Walczak K., Sieminska L. Obesity and thyroid axis // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2021. Т. 18. № 18. С. 9434.

10. Venkatesh V. S. et al. The role of the androgen receptor in the pathogenesis of obesity and its utility as a target for obesity treatments // Obesity Rev. 2022. Т. 23. № 6. С. e13429.

УДК 616-006.8

Добаева Н.М.¹, Бутенко Е.В.²,

Золотарева Е.И.², Бакурова Е.М.²

¹*Ростовский государственный медицинский университет
Ростов-на-Дону*

²*Донецкий государственный медицинский университет
им. М. Горького
Донецк
32000023@mail.ru*

КАТАБОЛИЗМ АДЕНОЗИНА — ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ

В карциномах определили взаимосвязь повышения активности аденозиндезаминазы, ксантиноксидазы, опухолевых уровней аденозина. При этом регистрировали снижение активности антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы (ГПО) и нарастание уровней малонового диальдегида, что прогностически неблагоприятно поскольку может способствовать формированию агрессивного фенотипа опухоли.

Ключевые слова: карцинома, аденозин, ферменты, малоновый диальдегид.

**Dobaeva N.M.¹, Butenko E.V.²,
Zolotareva E.I.², Bakurova E.M.²**

¹Rostov State Medical University
Rostov-on-Don

²Maksim Gorky Donetsk State Medical University
Donetsk

THE ADENOSINE CATABOLISM AS A POSSIBLE FACTOR OF TUMOR PROGRESSION

Its effects on the catabolism of adenosine, a signaling molecule involved in carcinogenesis, have been investigated. In tumors we determined the relationship between the tumors adenosine deaminase increased activity and xanthine oxidase activity, adenosine and malonic dialdehyde levels. At the same time, a decrease in the activity of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase were registered, which is prognostically unfavorable because it may contribute to the formation of an aggressive tumor phenotype.

Keywords: cancer, adenosine, enzymes, malonic dialdehyde.

В настоящее время сохраняется устойчивая тенденция поиска и разработок перспективных противоопухолевых отечественных препаратов. Так, например, согласно данных отчёта «Фармацевтический рынок России 2020» среди 16 тысяч исследовавшихся новых фармпрепаратов доля цитостатиков, обладающих противоопухолевой, антиметастатической активностью, составила 40% [1]. Следовательно, актуальность химико-биологических исследований в данной области может только возрастать. Отметим, что изучение в клинике дисметаболических процессов в опухоли при её прогрессии не только расширяют понимание её патогенетических особенностей, но могут способствовать выработке новых тактических решений. Диапазон таких исследований чрезвычайно широк, однако неизменным остаётся интерес к особенностям обмена метаболитов, которые имеют свойства биорегуляторных молекул. Одним из них является аденозин, описываемый как молекула адаптации к неблагоприятным факторам [2].

Так, известно, что быстрорастущая опухоль из-за более медленного формирования сосудов может испытывать гипоксию, что сопряжено с повышением уровней аденозина, активацией

через специфические рецепторы ряда его эффектов, способствующих росту [3]. В частности, передаваемых в клетках через активацию ряда сигнальных каскадов, важных для канцерогенеза и для активации онкобелков, например, через регуляцию активности митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) или ядерного фактора транскрипции каппа В (NF-каппа В), или путём непосредственной стимуляции секреции стромальными В-лимфоцитами интерлейкина 2 (IL-2) [4]. Поскольку последние являются мощными стимуляторами ангиогенеза, то можно предположить, что таргетирование метаболизма аденозина могло бы быть перспективным для сдерживания неоангиогенеза растущей опухоли.

Примером ещё одной сигнальной молекулы, имеющей ряд эффектов, способствующих метастазированию и инвазии, в том числе, подобно аденозину, стимулирующей ангиогенез, может быть пероксид водорода и ряд других активных форм кислорода (АФК). О значимости АФК для канцерогенеза свидетельствует мнение о том, что подавление их продукции может способствовать гибели трансформированных опухолевых клеток, т.ч. стволовых опухолевых клеток, опосредующих агрессивные свойства [5].

Поскольку обмен данных молекул сопряжен с особенностями активности их ферментов, то в рамках работы в тканях эпителиальных опухолей исследовали уровни пуриновых нуклеозидов в сочетании с особенностями активности аденозиндезаминазы, ксантинооксидазы, глутатионпероксидазы и уровнями показателя перекисного окисления липидов — малонового диальдегида (МДА), который является также представителем дикарбониллов.

При этом, если окислительный стресс считают значимым патогенетическим фактором при опухолевой прогрессии [6], то с формированием дикарбониллов, в частности МДА присоединится и так называемый карбонильный стресс [7], что потенцирует их эффекты.

Материалы и методы. Выполнено сравнительное изучение особенностей активности ферментов в гомогенатах эпителиальных опухолей молочной железы (РМЖ, 15 образцов аденокарцином); желудка и кишечника (РЖК, 20 образцов

аденокарцином). По уровню инвазии опухоли соответствовали T₂N_{0-x}M₀ и T₃N_{0-x}M₀ стадиям. В качестве контроля использовали визуально нетрансформированные ткани края резекции.

Активность аденозиндезаминазы (АДА) исследовали спектрофотометрически по снижению оптической плотности аденозина при 265 нм, активность ксантинооксидазы (КСО) — по повышению продукции мочевой кислоты, регистрировавшейся при 283 нм на фиолетовом светофильтре [8]. Уровни МДА определяли методом фотоколориметрии. Концентрации аденозина, инозина и гипоксантина в гомогенатах определяли методом обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Активность глутатионпероксидазы (ГПО) оценивали по изменению содержания восстановленного глутатиона, определяя его конъюгаты с 2-нитро-5-тиобензоатом [8].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием специализированной для биологических исследований программы «MedStat» (Альфа) и программы «Statistica 5.5» (StatSoft).

Результаты и обсуждение. Установили, что содержание пуринов в опухоли различно. Для аденозина и гипоксантина характерно их нарастание, в частности аденозина по сравнению с контролем в 3,7 раза (до 186,2±56,4, по сравнению с 50,2±18,7 мкмоль/л); гипоксантин был выше в 4 раза уровней в контроле (711,5±269,5 мкмоль/л по сравнению с 172,6±40,5 мкмоль/л). В то время как для инозина, наоборот, выявлено снижение уровней в опухолях до 42,6±15,6 мкмоль/л по сравнению со 170,5±55,4 мкмоль/л. При этом активность АДА достоверно повышалась в карциномах по сравнению с контролем.

Это согласуется с повышением активности ксантинооксидазы в среднем в 1,5–1,8 раза как в образцах РМЖ так и РЖК (см. табл. 1). Можно отметить, что для карцином различных локализаций характерно не только усиление катаболизма аденозина, но и в целом, пуриновых нуклеотидов. Так, между активностями АДА и КСО выявлена прямая сильная связь согласно показателю ранговой корреляции ($r=0,73$). Причем повышение ксантинооксидазной активности неизбежно ведет к формированию супероксид аниона. За это КСО считают «одним из главных

триггерных ферментов перекисного окисления». Так, установлено, что на фоне нарастания активности ксантиноксидазы увеличиваются уровни гидроперекисей жирных кислот, то есть усиливаются процессы перекисного окисления липидов [9]. Причем авторами было выявлено, что при двукратном нарастании активности КСО, уровни гидроперекисей жирных кислот нарастали втрое.

Нами также выявлено повышение уровней МДА в опухолях (см. табл. 1). Поскольку данные не подчинялись закону нормального распределения, то представлены в виде медианных значений (Me) и интервалов между 25-м и 75-м процентилями (первый и третий квартили (Q₁; Q₃)).

Таблица 1

Особенности прооксидантных процессов в опухолях РМЖ и РЖК, (медиана, квартили)

Показатель	К-ль	РМЖ	p	К-ль	РЖК	p
ГПО	3,40 (2,31; 5,12)	2,91 (1,90; 4,24)	0,006	2,23 (1,62; 3,01)	1,61 (1,14; 2,11)	0,011
КСО	8,46 (7,78; 10,74)	19,40 (17,94; 20,41)	< 0,001	14,46 (13,11; 16,55)	18,66 (17,11; 20,43)	0,002
МДА	4,00 (3,19; 5,68)	7,39 (5,12; 9,59)	< 0,001	5,34 (4,00; 7,22)	7,58 (6,13; 9,59)	0,003

Согласно критерию попарных сравнений Вилкоксона, как для активности КСО, так и для уровней МДА установлено их повышение в тканях опухолей. Однако при этом нами выявлено достоверное снижение активности одного из основных ферментативных антиоксидантов — ГПО. Выявленные дисметаболические особенности при опухолевом росте свидетельствуют об усилении прооксидантных процессов и дисбалансе антиоксидантной защиты.

Проводя множественный регрессионный анализ, для оценки взаимосвязи особенностей ферментативной активности с опухолевым процессом по сравнению с нетрансформированными тканями края резекции ввели такой качественный показатель как

«материал» (табл. 2). Это позволило учитывать особенности метаболизма в карциномах по сравнению с нетрансформированными тканями.

Согласно результатам анализа, наиболее специфичным для опухолей были изменения активности КСО и ГПО. Причём выявленная отрицательная связь активности ГПО с патологией, с активностью КСО и уровнями МДА чётко указывает на усиление прооксидантных процессов в исследуемых опухолях. Следовательно, можно утверждать, что нами выявлено одновременное нарастание как уровней аденозина, так и пероксида водорода. Значит их регуляторные эффекты на сигнальные пути канцерогенеза могут взаимно усиливаться.

Таблица 2

**Объединенные внутригрупповые корреляции
биохимических показателей эритроцитов при патологии
согласно результатам дискриминантного анализа**

Показатель	АДА	КСО	ГПО	МДА
Материал	0,265	0,542	-0,621	0,321
АДА	1,000	0,697	-0,383	0,309
КСО	0,697	1,000	-0,560	0,465
ГПО	-0,383	-0,560	1,000	-0,509
МДА	0,309	0,465	-0,509	1,000

Действительно, согласно Ланкину В.З. и соавт., ГПО является мишенью для дикарбониллов, причём дозозависимо её активность подавляет именно МДА [7]. Таким образом, свободно-радикальное и карбонильное повреждение фермента-антиоксиданта ГПО, имеющие место при развитии опухолевого процесса, способны модифицировать структуру ГПО, что ведёт к снижению её активности [6, 7].

Как видим, для устранения возможных последствий, вызванных усилением прооксидантных процессов, система глутатиона имеет решающее значение, однако и сама является мишенью для атаки как АФК и свободных радикалов, так и активных карбонильных метаболитов [7].

Следовательно, нам удалось описать некоторые универсальные химико-биологические особенности карцином

различных локализаций, лежащие в основе их прогрессии. Однако нельзя не отметить мнение М.А. Додоховой, И.М. Котиевой и соавт., о том, что снижение рН опухоли также сопряжено с формированием агрессивного фенотипа и прогрессией [10].

Таким образом, полученные нами результаты указывают, что между усилением катаболизма аденозина, усилением процессов свободно-радикального окисления и карбонильным стрессом имеются патогенетические взаимосвязи, что нарастанию этих нарушений может способствовать повышенная на фоне АДА активность КСО, в результате которой формируются синглетный кислород и пероксид водорода. Учитывая рост уровней МДА и снижение активности ГПО, можно считать, что антиоксидантная функция мочевой кислоты оказывается недостаточной. К тому же эта органическая кислота непосредственно может снижать рН среды, способствуя ещё большему её закислению.

Следовательно, усиление катаболизма аденозина в опухоли сопряжено с усилением окислительного и карбонильного стрессов, сдвигом рН в кислую сторону, что может вести к потенцированию её агрессивных свойств.

Список литературы

1. Додохова М.А., Акименко М.А., Воронова О.В. Сравнительный анализ использования моделей меланомы В16 и эпидермоидной карциномы легкого Льюис для проведения доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием // Уральский медицинский журнал. 2023. Т22(5). С. 66–76.

2. Dwyer K.M, Kishore B.K., Robson S.C. Conversion of extracellular ATP into adenosine: a master switch in renal health and disease // Nat Rev Nephrol. 2020. Vol. 16(9). P. 509-524.

3. An ADAR1-dependent RNA editing event in the cyclin-dependent kinase CDK13 promotes thyroid cancer hallmarks // Mol. Cancer. 2021. Vol. 20, N 1. P. 115.

4. Adenosine Signaling in the Tumor Microenvironment // Adv. Exp. Med. Biol. 2021. Vol. 1270 P. 145–167.

5. Kumari S., Badana A.K., G M.M., Shailender G., Malla R. R. Reactive oxygen species: a key constituent in cancer survival // Biomark Insights. 2018, Vol.13. P. 1–9.

6. Klaunig JE, Wang Z. Oxidative stress in carcinogenesis // *Curr Opin Toxicol*. 2018. Vol. 7. P. 116–121.

7. Природные дикарбонилы ингибируют пероксидазную активность пероксиредоксинов // Доклады Академии наук. 2019. Т. 485, № 3. С. 377–380.

8. Бакурова Е. М. Особенности эпителиальной опухоли при её мезенхимальном переходе // Актуальные вопр.биологической физики и химии. 2022. Т. 7, № 4. С. 604–607.

9. Окислительный стресс в патогенезе сахарного диабета 1 типа: роль ксантинооксидазы адипоцитов // Бюлл. сибирской медицины. 2017. Т. 16, № 4. С. 134–143.

10. Dodokhova M. A., Kotieva I. M., Safronenko A. V. Antitumor pharmacological activity of hybrid organotin compounds on the Lewis epidermoid carcinoma model // *Journal of Clinical Oncology*. 2022. Vol. 40, No. S16. P. e15004-15004.

УДК 577.17

Зорина И.И., Деркач К.В., Шпаков А.О.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова
Российской академии наук
Санкт-Петербург
zorina.inna.spb@gmail.com*

**СОВМЕСТНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНГИБИТОРА
ФОСФАТАЗЫ РТР1В И ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМОГО
ИНСУЛИНА ПРИВОДИТ К ГИПЕРАКТИВАЦИИ
ИНСУЛИНОВОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

Лечение самцов крыс с неонатальной моделью сахарного диабета 2 типа Р104, ингибитором фосфатазы РТР1В, или интраназально вводимым инсулином восстанавливало инсулиновую и лептиновую чувствительность и ряд метаболических показателей, в то время как их совместное использование приводило к гиперактивации инсулиновой системы, вызывая снижение массы тела и уровня инсулина, и не восстанавливало глюкозотолерантность.

Ключевые слова: интраназальный инсулин, ингибитор тирозинфосфатазы, сахарный диабет, глюкозный гомеостаз, инсулиновая чувствительность.

Zorina I.I., Derkach K.V., Shpakov A.O.

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences
St. Petersburg*

COMBINED USE OF PTP1B PHOSPHATASE INHIBITOR AND INTRANASALLY ADMINISTERED INSULIN LEADS TO HYPERACTIVATION OF THE INSULIN SIGNALING SYSTEM

The treatment of male rats with a neonatal model of type 2 diabetes mellitus with PI04, a PTP1B phosphatase inhibitor, or intranasally administered insulin restored insulin and leptin sensitivity and a number of metabolic parameters, while their combined use resulted in hyperactivation of the insulin system, causing a decrease in body weight and insulin levels, and did not restore glucose tolerance.

Keywords: intranasal insulin, tyrosine phosphatase inhibitor, diabetes mellitus, glucose homeostasis, insulin sensitivity.

Введение. Одним из подходов для коррекции инсулиновой системы мозга при метаболических и нейродегенеративных заболеваниях, в том числе при сахарном диабете 2-го типа (СД2), является применение интраназально вводимого инсулина (ИИ) и усилителей инсулинового сигналинга [1–3]. ИИ поступает в мозг по аксональным путям, минуя гематоэнцефалический барьер, проницаемость которого нарушена при СД2. Вследствие этого вызываемое ИИ повышение концентрации инсулина в структурах мозга, строго говоря, не зависит от степени выраженности инсулиновой резистентности, липотоксичности и воспалительных процессов, которые при СД2 существенно ослабляют транспорт циркулирующего в крови инсулина в мозг и препятствуют положительному влиянию на ЦНС инъекционного инсулина [3,4]. Ингибиторы тирозинфосфатазы 1В (PTP1B), подавляя активность этого фермента, как негативного регулятора инсулинового сигналинга, приводят к повышению чувствительности тканей-мишеней к инсулину, нормализуют пищевое поведение, массу тела и глюкозный гомеостаз у крыс с ожирением и метаболическим синдромом [5-7]. Основываясь на

этом, мы предположили, что комбинированное применение ИИ и ингибиторов РТР1В способно потенцировать их положительные эффекты, выявляемые при раздельном применении, а также может обеспечить снижение эффективных фармакологических доз ИИ и ингибиторов РТР1В, что важно для купирования их возможных побочных эффектов. Цель работы состояла в проверке этого предположения, для чего в сравнительном аспекте изучали влияние двухнедельного лечения крыс с неонатальной моделью СД2 с помощью сравнительно низких доз ИИ и Р104, разработанного нами ранее ингибитора РТР1В, при их раздельном и совместном введении, на метаболические и гормональные показатели у диабетических животных.

Материал и методы. Все процедуры при работе с животными осуществляли в соответствии с требованиями локального этического комитета ИЭФБ РАН и European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС). Для индукции неонатальной модели СД2 пятисуточным самцам-крысятам (Wistar) однократно вводили стрептозотоцин («Sigma-Aldrich», США) в дозе 70 мг/кг (в/б). Контрольным крысам в том же возрасте вводили растворитель стрептозотоцина (0.1 М цитратный буфер, рН 4.5). После обработки животных содержали в стандартных условиях вивария, со свободным доступом к воде и пище. В трехмесячном возрасте отбирали крыс с признаками СД2 — повышенной массой тела (на 8% и более от таковой в контрольной группе), гипергликемией (уровень глюкозы натощак не менее 6 ммоль/л) и нарушенной толерантностью к глюкозе, которую оценивали в глюкозотолерантном тесте (ГТТ). Уровень глюкозы в крови крыс, отнесенных к СД2 группе, через 120 мин после нагрузки был не менее 8 ммоль/л. По достижении 4 месяцев крыс с развившимся и верифицированным СД2 распределяли на 4 группы (в каждой n=6): без лечения (Д), с двухнедельным лечением ИВИ в дозе 0.5 МЕ/крысу/сутки (Д+И) или Р104 в дозе 8 мг/кг/сутки (в/б) (Д+Р104), с двухнедельным лечением совместно ИИ и Р104 в тех же дозах (Д+И+Р104). Контрольная группа (К) получала плацебо. Концентрацию глюкозы определяли с помощью тест-полосок «One Touch Select» (США) и глюкометра, концентрации инсулина и лептина — с помощью наборов Rat Insulin ELISA («Mercodia», Швеция) и ELISA for Leptin, Rat («Cloud-Clone Corp.», США).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения «Microsoft Office Excel 2007» (США), результаты представляли как $M \pm SEM$. Нормальность распределения оценивали критерием Шапиро-Уилка, считая достоверными различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Лечение крыс ИИ и Р104 восстанавливало, хотя и в различной степени, чувствительность к глюкозной нагрузке, снижало повышенные у СД2-крыс содержание гликированного гемоглобина и уровни глюкозы и лептина через 120 мин после глюкозной нагрузки (табл. 1, 2). Наряду с этим монотерапия ингибитором РТР1В снижала повышенные при СД2 массу тела и абдоминального жира, уровень глюкозы натощак, концентрацию инсулина в крови через 120 мин после глюкозной нагрузки и индекс ИР (табл. 1, 2). Тем самым, при использовании относительно низких доз препаратов продемонстрирован их отчетливо выраженный восстанавливающий эффект на метаболические и гормональные показатели у крыс с неонатальной моделью СД2. Ранее было показано улучшение метаболического и гормонального статуса при лечении ИИ животных с различными моделями СД2 и пациентов с этой диабетической патологией [3,8], а также позитивный эффект ингибиторов РТР1В, включая Р104, на пищевое поведение, массу тела и метаболические показатели у крыс с диету-индуцированным ожирением [5–7].

При этом если в случае ИИ происходит активация преимущественно инсулиновой системы мозга, поскольку в низких и средних дозах при интраназальном способе доставки инсулин лишь в незначительных количествах поступает в периферический кровоток [9], то в случае применения ингибиторов РТР1В реализуется его системный стимулирующий эффект на инсулиновую чувствительность как в ЦНС, так и на периферии. С этим, как мы полагаем, связано более выраженное в сравнении с ИИ воздействие Р104 на метаболические и гормональные показатели, продемонстрированное нами у СД2-крыс.

Таблица 1

Масса тела и абдоминального жира, уровни глюкозы до и через 120 мин после глюкозной нагрузки в ГТТ, АUC (0–120) для глюкозных кривых, содержание гликированного гемоглобина у крыс с неонатальной моделью СД2 и влияние на эти показатели терапии ИИ, P104 и их комбинацией

Показатель	К	Д	Д+И	Д+P104	Д+И+P104
Масса тела, г	367±7	467±17*	438±13*	398±6*#	336±20#
Масса жира, г	4,8±0,3	15,6±1,8*	12,8±1,5*	6,7±1,1#	4,4±0,9#
Глюкоза-0	4,1±0,1	5,4±0,2*	5,0±0,2*	4,6±0,1*#	3,8±0,4#
Глюкоза-120	4,3±0,2	8,2±0,5*	5,7±0,3*#	5,2±0,2*#	6,7±0,6*
AUC (0–120)	896±30	1643±48*	1230±23*#	1005±53#	1364±57*
HbA1c, %	4,4±0,1	6,0±0,2*	5,3±0,1*#	4,7±0,2#	4,9±0,6

Примечание. Уровни глюкозы в крови до (0 мин) и через 120 мин после нагрузки глюкозой в ГТТ представлены в ммоль/л. Значения AUC(0–120), интегрированной площади под глюкозными концентрационными кривыми в ГТТ, даны в относительных единицах. Различия значимы при $p < 0,05$: * — с группой К, # — с группой Д. $M \pm SEM$, $n=6$ в каждой группе.

Таблица 2

Уровни инсулина и лептина в крови и индекс инсулиновой резистентности у крыс с неонатальной моделью СД2 и влияние на эти показатели лечения ИИ, P104 и их комбинацией

Показатель	К	Д	Д+И	Д+P104	Д+И+P104
Инсулин-0	0,76±0,09	0,92±0,17	0,69±0,14	0,54±0,10	0,31±0,04*#
Инсулин-120	0,90±0,14	2,13±0,43*	1,37±0,39	1,21±0,18#	1,56±0,48
Индекс ИР	3,12±0,16	4,97±0,41*	3,45±0,37	2,49±0,20#	1,18±0,12*#
Лептин-0	0,88±0,13	1,98±0,16*	1,75±0,11*	1,18±0,34	0,61±0,15#
Лептин-120	1,00±0,14	5,68±0,50*	3,77±0,34*#	1,85±0,33#	1,42±0,23#

Примечание. Уровни инсулина и лептина в крови до (0) и через 120 мин после нагрузки глюкозой в ГТТ представлены в нг/мл. Значения индекса ИР, представляющего собой произведение концентраций глюкозы и инсулина натощак, даны в относительных единицах. Различия значимы при $p < 0,05$: * — с группой К, # — с группой Д. $M \pm SEM$, $n=6$ в каждой группе.

Комбинированное применение ИИ и Р104 приводило к более выраженному эффекту в отношении снижения повышенных при СД2 массы тела и жировой ткани, базовых (натощак) уровней инсулина и лептина, стимулированного глюкозой уровня инсулина, индекса ИР, причем базовый уровень инсулина в группе Д+И+Р104 был значимо ниже такового у контрольных животных (табл. 1, 2). Достаточно неожиданным было то, что уровень глюкозы через 120 мин после глюкозной нагрузки и значение AUC(0–120) менялись в меньшей степени, чем при монотерапии Р104 (табл. 1). Так, например, значение AUC(0–120) в группе Д+И+Р104 существенно не отличалось от такового в группе Д, в то время как между группами Д и Д+Р104 различия были достоверными (табл. 1). В группе Д+И+Р104 отсутствовали и различия с группой Д в отношении уровня инсулина, стимулированного глюкозой, который был достоверно снижен в группе Д+Р104 (табл. 2). Эти данные указывают на то, что при совместном применении ИИ и Р104 может происходить гиперактивация инсулиновой системы в ЦНС и на периферии, вследствие синергизма в действии ИИ и Р104. В этой связи необходимо отметить, что ИИ вызывает активацию инсулиновой системы не только в ЦНС, но и через центральные механизмы на периферии, что приводит к снижению необходимого для контроля глюкозного гомеостаза уровня инсулина поджелудочной железой [9,10], что иллюстрируется обнаруженным нами снижением базового уровня инсулина. Как можно полагать, такое резкое снижение продукции гормона приводит к задержанному ответу на глюкозную нагрузку, в связи с чем отмечается ослабление восстанавливающего эффекта комбинированной терапии на показатели глюкозного гомеостаза.

Таким образом, полученные данные с одной стороны указывают на эффективность даже сравнительно низких доз ИИ и Р104, разработанного нами ингибитора РТР1В, на метаболические и гормональные показатели у крыс с неонатальной моделью СД2, и с другой, свидетельствуют о нецелесообразности совместного применения этих препаратов в связи с гиперстимулирующим влиянием такой комбинации на инсулиновую систему.

Работа поддержана государственным заданием № 075-00264-24-00 (ИЭФБ РАН).

Список литературы

1. Cariou B. Pleiotropic effects of insulin and GLP-1 receptor agonists: Potential benefits of the association // *Diabetes & Metabolism*. 2015. Т. 41. № 6. С. 6S28–6S35.
2. Eleftheriou P., Geronikaki A., Petrou A. PTP1b Inhibition, A Promising Approach for the Treatment of Diabetes Type II // *CTMC*. 2019. Т. 19. № 4. С. 246–263.
3. Shpakov A. O., Zorina I. I., Derkach K. V. Hot Spots for the Use of Intranasal Insulin: Cerebral Ischemia, Brain Injury, Diabetes Mellitus, Endocrine Disorders and Postoperative Delirium // *IJMS*. 2023. Т. 24. № 4. С. 3278.
4. Ohtsuki S. Insulin receptor at the blood–brain barrier: Transport and signaling // *Vitamins and Hormones*.: Elsevier, 2024. С. 113–124.
5. Zakharova I. O. и др. 4-охо-1,4-dihydrocinnoline Derivative with Phosphatase 1B Inhibitor Activity Enhances Leptin Signal Transduction in Hypothalamic Neurons // *J. Evol. Biochem. Phys.* 2018. Т. 54. № 4. С. 273–280.
6. Teimouri M. и др. The role of protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus and its complications // *J. Physiol. Biochem*. 2022. Т. 78. № 2. С. 307–322.
7. Derkach K. V. и др. Dual PTP1B/TC-PTP Inhibitors: Biological Evaluation of 3-(Hydroxymethyl)cinnoline-4(1H)-Ones // *IJMS*. 2023. Т. 24. № 5. С. 4498.
8. Aponte Becerra L. и др. Safety of Intranasal Insulin in Type 2 Diabetes on Systemic Insulin: A Double-Blinded Placebo-Controlled Sub-Study of Memaid Trial // *Arch. Diabetes Obes*. 2022. Т. 4. № 2. С. 403–415.
9. Hallschmid M. Intranasal insulin // *J. Neuroendocrinology*. 2021. Т. 33. № 4. С. e12934.
10. Ott V. и др. Central Nervous Insulin Administration Does Not Potentiate the Acute Glucoregulatory Impact of Concurrent Mild Hyperinsulinemia // *Diabetes*. 2015. Т. 64. № 3. С. 760–765.

УДК [57.017.7:581]:616-006.6-08

**Коваль А.Н.¹, Литвинчук А.В.², Логвинович О.С.³,
Сергеенко С.М.⁴, Гельдимамедов Ч.А.⁵, Белоус Е.М.⁶,
Громыко М.В.⁷, Шафорост А.С.⁸**

*^{1-4,6-8}Гомельский государственный медицинский университет,
⁵ООО «Сальфурина»*

Гомель, Республика Беларусь

¹akovalj@ya.ru; ²litvinalex@gmail.com;

³ologvinovich@rambler.ru; ⁴serg2@tut.by;

⁵crazymahtush94@gmail.com; ⁶katy.belous@mail.ru;

⁷marina67627@gmail.com; ⁸asofocl@mail.ru

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ G-КВАДРУПЛЕКСЫ:

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ В ЛЕЧЕНИИ РАКА

Митохондрии, известные как «энергетические станции» клеток, играют ключевую роль в производстве АТФ, клеточном метаболизме и регуляции апоптоза. Митохондриальная дисфункция связана с прогрессированием рака и устойчивостью к терапии. В статье рассматривается влияние G-квадруплексов (G4) в митохондриальной ДНК на канцерогенез и механизмы действия растительных вторичных метаболитов, которые могут модулировать митохондриальные функции. Изучение механизма стабилизации или разрушения G4 структур может использоваться в качестве терапевтической стратегии для индукции гибели раковых клеток, указывая на перспективы применения ряда растительных соединений в онкологии.

Ключевые слова: митохондрии, G-квадруплексы, растительные вторичные метаболиты, апоптоз, онкология.

**Koval A.N.¹, Litvinchuk A.V.², Logvinovich O.S.³,
Sergeenko S.M.⁴, Geldimamedov C.A.⁵, Belous E.M.⁶,
Gromyko M.V.⁷, Shaforost A.S.⁸**

*^{1-4, 6-8}Educational Institution Gomel State Medical University,
⁵«Salfirina» LLC*

Gomel, Republic of Belarus

PLANT SECONDARY METABOLITES AND MITOCHONDRIAL G-QUADRUPLEXES: THERAPEUTIC POTENTIAL IN CANCER TREATMENT

Mitochondria, known as the «power plants» of cells, play a key role in ATP production, cellular metabolism, and regulation of apoptosis. Mitochondrial dysfunction is associated with cancer progression and resistance to therapy. This article reviews the effect of G-quadruplexes (G4) in mitochondrial DNA on carcinogenesis and the mechanisms of action of plant secondary metabolites that can modulate mitochondrial functions. Studying the mechanism of stabilization or destruction of G4 structures can be used as a therapeutic strategy for inducing cancer cell death, indicating the prospects for the use of a number of plant compounds in oncology.

Keywords: mitochondria, G-quadruplexes, plant secondary metabolites, apoptosis, oncology.

Введение. Митохондрии, часто именуемые «энергетическими станциями» клеток, осуществляют критически важные функции в производстве аденозинтрифосфата (АТФ), клеточном метаболизме и регуляции апоптоза. Эти органеллы занимают центральное место в биологии рака, поскольку митохондриальная дисфункция тесно связана с прогрессированием опухолей, метастазированием и устойчивостью к химиотерапии. Недавние исследования выявили наличие G-квадруплексов (G4) — неканонических структур нуклеиновых кислот — в митохондриальной ДНК (мтДНК), что предполагает их потенциальную роль в функционировании митохондрий, особенно в контексте канцерогенеза.

Растительные вторичные метаболиты, разнообразная группа биоактивных соединений, которые обладают перспективного применения в качестве терапевтических средств в исследованиях рака. Эти соединения способны модулировать функции митохондрий и оказывать противораковое действие. В данной статье мы сосредоточимся на механизмах влияния растительных вторичных метаболитов на митохондриальную функцию, в частности, через стабилизацию или разрушение G4 структур, а также обсудим их потенциальное применение в онкологии.

1. G-квадруплексные структуры в митохондриях: терапевтическая мишень

G-квадруплексы (G4) представляют собой четырехцепочечные участки ДНК или РНК, формируемые в последовательностях,

обогащенных гуаниновыми нуклеотидами. Эти структуры широко распространены в митохондриальной ДНК и играют важную роль в регуляции экспрессии митохондриальных генов, репликации и стабильности генома. Изменение или стабилизация G4 структур в мтДНК может приводить к митохондриальной дисфункции, что делает их потенциальной терапевтической мишенью в контексте рака.

Интерес к G4 структурам в раковых клетках обусловлен их способностью модулировать ключевые процессы, такие как клеточный метаболизм, апоптоз и реакция на окислительный стресс. Нацеливание на G4 в мтДНК с помощью низкомолекулярных соединений, включая вторичные метаболиты растительного происхождения, представляет собой многообещающую стратегию для индукции гибели раковых клеток посредством усиления митохондриальной дисфункции.

2. Вторичные метаболиты растений: источник агентов, нацеленных на G4

Вторичные метаболиты растений — это биоактивные соединения, играющие защитную, сигнальную и регуляторную роль в растениях. Эти соединения, включая флавоноиды, алкалоиды, терпеноиды и фенольные соединения, были предметом тщательного изучения в контексте их противораковых свойств. Многочисленные исследования показали, что многие растительные соединения взаимодействуют со структурами G4, модулируя митохондриальную функцию и вызывая апоптоз в раковых клетках.

2.1. Флавоноиды и стабилизация G4 в митохондриях

Флавоноиды, класс полифенольных соединений, широко встречающихся во фруктах, овощах и лекарственных растениях, продемонстрировали значительные свойства стабилизации G4, что может оказывать влияние на функции митохондрий. Например, кверцетин, хорошо изученный флавоноид, стабилизирует G4 структуры как в ядерной, так и в митохондриальной ДНК, подавляя репликацию ДНК и способствуя дисфункции митохондрий в раковых клетках.

Исследования, проведенные Huang et al. [1], продемонстрировали, что кверцетин индуцирует митохондриальную дисфункцию в раковых клетках через

стабилизацию G4. Это соединение избирательно воздействует на G4 структуры в мтДНК, нарушая процессы репликации и транскрипции митохондриального генома, что приводит к усилению окислительного стресса и апоптозу.

2.2. Взаимодействие алкалоидов и митохондриального G4

Алкалоиды, другой класс вторичных метаболитов растений, продемонстрировали значительный потенциал в воздействии на G4 структуры в мтДНК. Берберин, изохинолиновый алкалоид, обнаруженный в растениях рода *Berberis*, стабилизирует G4 структуры, особенно в митохондриальной ДНК. Связывание берберина с G4 препятствует репликации мтДНК, что приводит к нарушению функции митохондрий и гибели раковых клеток.

Другие исследования показали, что берберин избирательно воздействует на мотивы G4 в митохондриях раковых клеток, вызывая митохондриальный стресс и способствуя апоптозу. Избирательная токсичность алкалоида по отношению к раковым клеткам при минимальном воздействии на нормальные клетки подчеркивает его потенциал в качестве агента, нацеленного на митохондрии в онкологии [2].

2.3. Терпеноиды и нарушение G4 в митохондриях

Терпеноиды, большой и разнообразный класс метаболитов растительного происхождения, также изучались на предмет их взаимодействия со структурами G4 в митохондриях. Артемизинин, сесквитерпеновый лактон, выделенный из *Artemisia annua*, продемонстрировал мощную противораковую активность через митохондриальное нацеливание. Сообщается, что артемизинин нарушает G4 структуры в мтДНК, что приводит к потере митохондриальной функции.

Было показано, что артемизинин и его производные взаимодействуют со структурами G4 в митохондриях раковых клеток, дестабилизируя эти структуры и вызывая повреждение митохондриальной ДНК. Это нарушение приводит к снижению выработки энергии митохондриями и вызывает апоптоз в раковых клетках [3, 4].

3. Механизмы действия на G4 и митохондриальная дисфункция

Механизмы, посредством которых вторичные метаболиты растений влияют на G4 структуры в митохондриях, многогранны.

Эти соединения могут либо стабилизировать, либо нарушать G4, в зависимости от их химической структуры и связывающей способности с мотивами G4. Модулируя стабильность G4, растительные метаболиты могут оказывать влияние на несколько ключевых процессов в митохондриальной функции, включая:

Репликация и транскрипция митохондриальной ДНК: Стабилизация G4 может препятствовать репликации мтДНК, что приводит к нестабильности митохондриального генома. Это особенно актуально в раковых клетках, где репликация мтДНК необходима для поддержания высокой метаболической активности.

Пути митохондриального апоптоза: Взаимодействие вторичных метаболитов растений с митохондриальными G4 может инициировать апоптоз через внутренний путь, включая высвобождение цитохрома с из митохондрий, активацию каспаз и последующую гибель клеток.

Окислительный стресс и продукция активных форм кислорода: Нарушение митохондриальных G4 структурами растительных метаболитов может увеличить выработку активных форм кислорода (ROS), что приводит к окислительному стрессу и повреждению митохондрий. Раковые клетки, уже находящиеся под воздействием окислительного стресса, особенно уязвимы к дальнейшему нарушению функции митохондрий.

4. Применение в онкологии: устранение митохондриальной дисфункции

Избирательное нацеливание на G4 структуры в митохондриях представляет собой многообещающую стратегию для терапии рака. Вторичные метаболиты растений являются естественным источником агентов, способных стабилизировать или разрушать G4, что может приводить к дисфункции митохондрий в раковых клетках. Их способность избирательно воздействовать на раковые клетки, не затрагивая при этом нормальные клетки, является важным преимуществом для разработки противораковой терапии с уменьшенными побочными эффектами.

Например, берберин и кверцетин продемонстрировали сильные противораковые эффекты, стабилизируя G4 структуры в митохондриальной ДНК и вызывая селективную индукцию апоптоза в раковых клетках. Артемизинин, в свою очередь,

нарушает G4 структуры, вызывая дисфункцию митохондрий и гибель раковых клеток. Разнообразие вторичных метаболитов растений и их различные взаимодействия со структурами G4 открывают широкий спектр возможностей для разработки митохондриально-таргетированной терапии в онкологии.

Заключение. Роль вторичных метаболитов растений в модуляции митохондриальной функции через взаимодействие с G-квадруплексными структурами представляет собой новую и перспективную область исследований с значительными последствиями для онкологии. Эти соединения, включая флавоноиды, алкалоиды и терпеноиды, продемонстрировали способность стабилизировать или нарушать G4 структуры в митохондриальной ДНК, что приводит к митохондриальной дисфункции и гибели раковых клеток. Воздействуя на уязвимости митохондрий, вторичные метаболиты растений предлагают многообещающую стратегию для разработки новых противораковых методов лечения. Дальнейшие исследования специфических взаимодействий между этими соединениями и митохондриальными G4 помогут раскрыть их полный терапевтический потенциал в борьбе с раком.

Список литературы

1. Huang W. C. et al. Direct evidence of mitochondrial G-quadruplex DNA by using fluorescent anti-cancer agents //Nucleic acids research. 2015. Т. 43. № 21. С. 10102-10113.
2. Doimo M. et al. Enhanced mitochondrial G-quadruplex formation impedes replication fork progression leading to mtDNA loss in human cells //Nucleic Acids Research. 2023. Т. 51. № 14. С. 7392-7408.
3. Falabella M. et al. G-quadruplex dynamics contribute to regulation of mitochondrial gene expression //Scientific reports. 2019. Т. 9. № 1. С. 5605.
4. Содержание ионов калия в цитоплазме и гуаниновых квадруплексов в митохондриальной ДНК как показатели обеспеченности клетки энергией / А. Н. Коваль, Л. Н. Алексейко, О. С. Логвинович, Н. С. Мышковец // Биохимия и молекулярная биология. 2024, Т. 3, № S1(4), С. 37-38.

УДК [577.29+577.151.45+577.151.36]:616.894-053.8

Костюченко Н.С., Хрусталёва Т.А.

Институт физиологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, Минск

nkostuchenko888@gmail.com

**ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ ПЕПТИДНЫХ БЛОКАТОРОВ
САЙТА ПРОТЕОЛИЗА БЕЛКА-ПРЕДШЕСТВЕННИКА
 β -АМИЛОИДНЫХ ПЕПТИДОВ β -СЕКРЕТАЗОЙ**

Выполнено моделирование структур 30 потенциальных пептидов-блокаторов взаимодействия белка-предшественника β -амилоида и β -секретазы. Среди них отобрано 9 пептидов с наилучшим сродством к фрагменту белка-предшественника. Наиболее перспективным себя показал гептапептид RSRVTLK по результатам молекулярного докинга тройных комплексов субстрат-блокатор-фермент с вычислением их свободной энергии.

Ключевые слова: *болезнь Альцгеймера, бета-секретаза, белок-предшественник бета-амилоидных пептидов.*

Kastsichenka M.S., Khrustaleva T.A.

Institute of Physiology of the NAS of Belarus

Republic of Belarus, Minsk

nkostuchenko888@gmail.com

**PRIMARY SCREENING OF PEPTIDE BLOCKERS OF THE
 β -AMYLOID PEPTIDE PRECURSOR PROTEOLYSIS
SITE BY β -SECRETASE**

The structures of 30 potential peptide blockers of the interaction between β -amyloid precursor protein and β -secretase were modelled. Among them, 9 peptides with the best affinity for the precursor protein fragment were selected. The RSRVTLK heptapeptide was found to be the most promising according to the results of molecular docking of triple substrate blocker-enzyme complexes with calculation of their free energy.

Keywords: *Alzheimer disease, β -secretase, β -amyloid precursor protein.*

Введение. В последние годы болезнь Альцгеймера занимает лидирующие места среди причин смертности в развитых странах.

Согласно докладу Всемирной организации здравоохранения, в 2023 году насчитывалось свыше 30 млн людей, страдающих от данного заболевания [1].

Патогенез болезни Альцгеймера до конца не изучен, однако выдвинут ряд гипотез, которые описывают процессы, приводящие к нарушению функционирования нейронов. В настоящее время основной гипотезой является β -амилоидная — нарушения в работе нейронов происходят из-за накопления агрегатов β -амилоидных пептидов, которые образуются при протеолизе соответствующего белка-предшественника ферментом β -секретазой [2]. В норме расщепление белка-предшественника осуществляет γ -секретаса, в результате чего образуются несклонные к агрегации пептиды [2, 3]. Описаны мутации, которые могут влиять на вероятность протеолиза белка-предшественника β -секретазой [4]. В связи с этим первым подходом к терапии болезни Альцгеймера был поиск ингибиторов β -секретазы для снижения накопления β -амилоидных пептидов, однако ингибирование данного фермента приводило к нарушениям в трофических процессах и миелинизации нейронов [5]. И поэтому перспективным направлением в терапии болезни Альцгеймера является поиск молекул, которые будут препятствовать накоплению β -амилоидных агрегатов, но при этом не влиять на собственную активность β -секретазы

Цель работы — поиск потенциальных пептидных блокаторов взаимодействия белка-предшественника β -амилоидных пептидов и β -секретазы.

Методы исследования. В качестве агентов, нарушающих накопление β -амилоидных агрегатов, рассматривали низкомолекулярные пептиды, богатые положительно заряженными и гидрофобными аминокислотами, что позволяет им связываться в области сайта протеолиза белка-предшественника β -амилоидных пептидов. Для каждого из исследуемых пептидов моделировали трехмерную структуру молекулы при помощи сервера PEP-FOLD 3.5 [6].

Далее осуществляли молекулярный докинг полученных структур к модельным субстратам в программе Hex 8.0,0 в режиме shape+electro+DARS с постпроцессингом DARS Energies [7].

В качестве модельных субстратов были использованы пептиды TE12 и swTE12. TE12 представляет собой фрагмент белка-предшественника β -амилоидных пептидов TEEISEVKMDAE, содержащий сайт протеолиза β -секретазой. swTE12 — фрагмент аналогичный TE12, но содержащий в сайте протеолиза двойную аминокислотную замену KM>NL, увеличивающую вероятность протеолиза субстрата β -секретазой (так называемая Шведская мутация). Последовательности пептидов и полученные энергии связывания (Docking score) с субстратами представлены в табл. 1.

Среди полученных в ходе докинга комплексов отбирали структуры с наиболее низкой свободной энергией и моделировали их связывание с молекулой β -секретазы (PDB ID: 1xn2 [8]) в программе Hex 8.0,0 в режиме shape+electro+DARS с постпроцессингом DARS Energies. Затем для полученных моделей проводили дополнительную минимализацию энергии комплекса при помощи программы Swiss-PdbViewer [9].

Результаты и обсуждение. В ходе работы были протестированы 30 низкомолекулярных пептидов способных связываться с белком-предшественником β -секретазы (см. табл. 1).

Среди исследуемых пептидов наибольшим сродством к TE12 обладали KTRLSVR ($E_{св}=-537,35$), RSRVTLK ($E_{св}=-536,39$), KVRKLTl ($E_{св}=-530,20$), RLRKVTV ($E_{св}=-527,53$) и LSVKRVK ($E_{св}=-520,85$). В случае связывания с swTE12 — KIKRVTI ($E_{св}=-680,05$), KTRLSVR ($E_{св}=-678,30$), RSRVTLK ($E_{св}=-659,94$), LTIRKIR ($E_{св}=-649,26$), RRKITLK ($E_{св}=-648,76$) и KVRKVSU ($E_{св}=-647,30$).

Таблица 1

Аминокислотные последовательности потенциальных пептидных блокаторов и их энергия связывания (Docking score) с модельными субстратами

Последовательность	$E_{св}$ swTE12	$E_{св}$ TE12	Последовательность	$E_{св}$ swTE12	$E_{св}$ TE12
KIKRVTI	-680,05	-514,84	KKITVK	-582,82	-500,30
KTRLSVR	-678,30	-537,35	RISVKSH	-582,57	-501,68
RSRVTLK	-659,94	-536,39	KTRITVK	-582,38	-464,16
LTIRKIR	-649,26	-512,76	RLSIRSR	-581,93	-433,46
RRKITLK	-648,76	-516,59	QKLIR	-556,17	-409,52
KVRKVS	-647,30	-518,17	RLSIRN	-551,42	-418,06
LSVKRVK	-631,97	-520,85	KITLKQ	-551,14	-436,07
RLRKVTV	-623,33	-527,53	HLTLKK	-549,84	-435,72
RLTIKK	-621,68	-472,23	QRITVK	-546,89	-456,33
KITVRRH	-621,31	-509,19	HTRVTLR	-515,86	-399,55
KVRKLT	-614,30	-530,20	NRLTVH	-509,78	-386,05
ISLRKIK	-608,22	-469,33	KLTIKTH	-501,33	-430,55
VSVRKIK	-604,53	-475,90	RITLKTH	-495,54	-418,85
RIRKITV	-599,82	-480,26	HISLKN	-476,05	-351,63
VTVKRIR	-595,53	-486,73	NKLSIH	-451,91	-421,70

Для отобранных комплексов пептид-субстрат моделировали взаимодействие с молекулой β -секретазы (PDB ID: 1xn2), после чего осуществляли минимизацию энергии в Swiss-PdbViewer (табл. 2).

Полученные комплексы представлены на рис. 1 и 2.

Таблица 2

Свободная энергия тройного комплекса субстрат-блокатор-фермент

Комплекс*1хп2	$E_{\text{своб}}$, кДж/моль
TE12	-18947,719
swTE12	-19773,805
TE12-KTRLSVR	-19416,197
TE12-RSRVTLK	-19349,410
TE12-KVRKLTl	-19168,951
TE12-RLRKVTV	-20096,707
TE12-LSVKRVK	-18024,545
swTE12-KIKRVTI	-18102,781
swTE12-KTRLSVR	-19710,771
swTE12-RSRVTLK	-19748,510
swTE12-LTIRKIR	-18659,912
swTE12-RRKITLK	-17565,082
swTE12-KVRKVSV	-18334,521

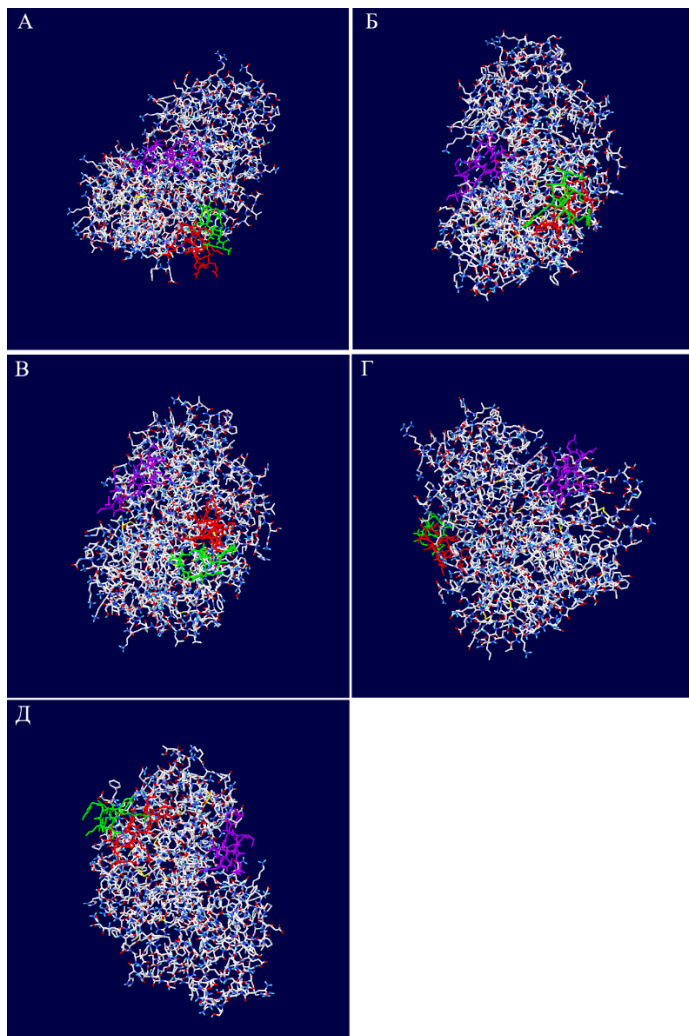


Рис. 1. Взаимодействие комплекса блокатор-TE12 с β -секретазой. Фиолетовым обозначено место связывания TE12 без блокатора в активном центре β -секретазы, зеленым — блокатор, красным — TE12 в комплексе с пептидом: *А* — KTRLSVR; *Б* — RSRVTLK; *В* — KVRKLTl; *Г* — RLRKVTV; *Д* — LSVKRVK

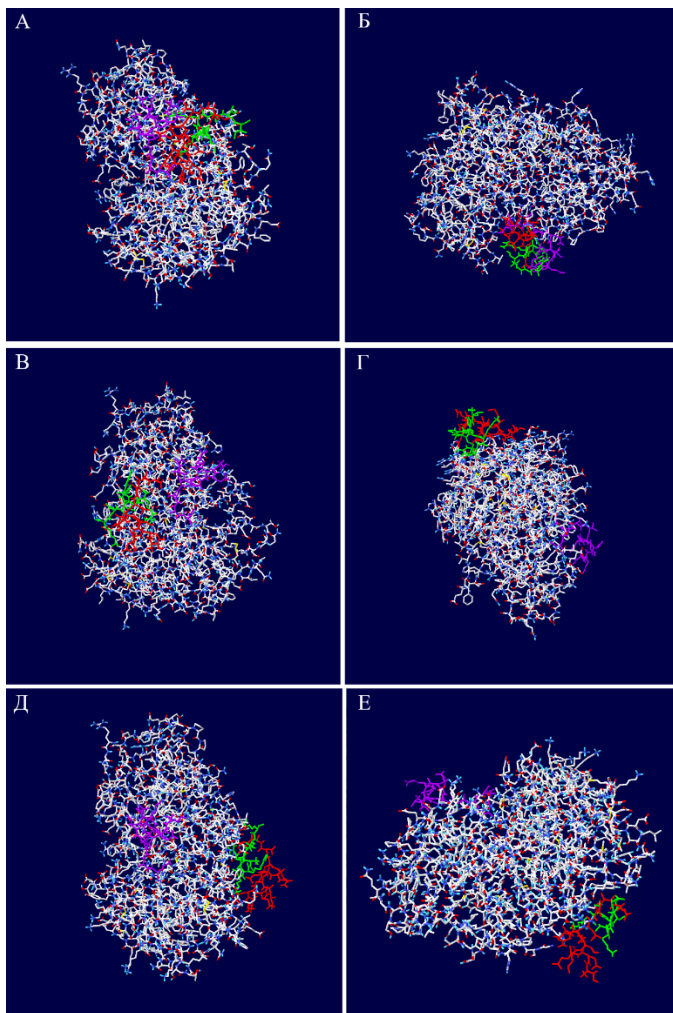


Рис. 2. Взаимодействие комплекса блокатор-swTE12 с β -секретазой. Фиолетовым обозначено место связывания swTE12 без блокатора в активном центре β -секретазы, зеленым — блокатор, красным — swTE12 в комплексе с пептидом:
A — KIKRVTI; *Б* — KTRLSVR; *В* — RSRVTLK; *Г* — LTIRKIR;
Д — RRKITLK; *Е* — KVRKVSV

Основными критериями отбора наиболее перспективных блокаторов были: 1) интеракция комплекса блокатор-субстрат с ферментом происходит не в области активного центра; 2) взаимодействие происходит со стороны пептидного блокатора, тем самым уменьшая вероятность протеолиза белка-предшественника; 3) свободная энергия тройного комплекса примерно равна или ниже свободной энергии комплекса субстрат-фермент.

Среди исследованных блокаторов наибольшего внимания заслуживает RSRVTLK, поскольку, несмотря на то что взаимодействие комплекса блокатор-субстрат с ферментом локализовано возле активного центра (рисунок 2B), связывание происходит со стороны блокатора, а свободная энергия тройного комплекса соизмерима с комплексом субстрат-фермент для обоих модельных субстратов.

Пептид KTRL SVR также обладает высоким сродством к обоим субстратам, однако в качестве блокатора может использоваться только в случае TE12, так как взаимодействие комплекса swTE12-KTRL SVR с ферментом происходит непосредственно в активном центре и со стороны субстрата. Подобный характер взаимодействия с активным центром β -секретазы обнаружен для комплекса swTE12-KIKRVTI.

Комплекс TE12-LSVKRVK не удовлетворяет ни одному из вышеперечисленных критериев.

Комплексы TE12-KVRKLT I и TE12-RLRKVTV обладают низкой свободной энергией при связывании с ферментом, а само связывание происходит вне активного центра, но взаимодействие при этом происходит преимущественно со стороны субстрата. Комплексы swTE12-LTIRKIR, swTE12-RRKILTK и swTE12-KVRKVSU удовлетворяют первым двум критериям, но обладают более высокой свободной энергией тройного комплекса. И поэтому представляется возможным внесение изменений в аминокислотную последовательность данных коротких пептидов для уменьшения свободной энергии всего комплекса.

Таким образом в ходе работы исследовано 30 потенциальных блокаторов взаимодействия белка-предшественника бета-амилоидных пептидов с β -секретазой, среди которых отобрано 9 пептидов с наилучшим связыванием с модельными субстратами.

В ходе докинга комплексов с β -секретазой наилучший результат показали RSRVTLK для обоих модельных субстратов и KTRLSVR для TE12. Пептиды KVRKLTИ, RLRKVTV, LTIRKIR, RRRKILTK и KVRKQSV требуют модификации последовательности для увеличения их эффективности как блокатора.

Список литературы

1. Long, S., Benoist, C., Weidner, W. World Alzheimer Report 2023: Reducing dementia risk: never too early, never too late. London: Alzheimer's Disease International. 2023. 95 с.
2. Alzheimer's disease / P. Scheltens, B. De Strooper, M. Kivipelto, H. Holstege, G. Ch  telat, C.E. Teunissen, J. Cummings, W.M. van der Flier// The Lancet. 2021. Vol. 397. № 10284. P. 1577–1590.
3. Selkoe D.J., Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years // EMBO molecular medicine. 2016. Vol. 8. № 6. P. 595–608.
4. Goate A.M. Monogenetic determinants of Alzheimer's disease: APP mutations // Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. 1998. Vol. 54. P. 897–901.
5. Moussa C.E.H. Beta-secretase inhibitors in phase I and phase II clinical trials for Alzheimer's disease // Expert opinion on investigational drugs. 2017. Vol. 26. № 10. P. 1131–1136.
6. PEP-FOLD3: faster de novo structure prediction for linear peptides in solution and in complex / A. Lamiable, P. Th  venet, J. Rey, M. Vavrusa, P. Derreumaux, P. Tuff  ry // Nucleic Acids Res. 2016. Vol. 44. № W1. P. W449–454.
7. Ritchie D.W., Venkatraman V. Ultra-fast FFT protein docking on graphics processors // Bioinformatics. 2010. Vol. 26. № 19. P. 2398–2405.
8. Structural Locations and Functional Roles of New Subsites S5, S6, and S7 in Memapsin 2 (β -Secretase) / R.T. Turner, L. Hong, G. Koelsch, A.K. Ghosh, J. Tang // Biochemistry. 2005. Vol. 44. № 1. P. 105–112.
9. Defining and searching for structural motifs using DeepView/Swiss-PdbViewer / M.U. Johansson, V. Zoete, O. Michielin, N. Guex // BMC Bioinformatics. 2012. Vol. 13. P. 173–184.

УДК 575.174.015.3:616.155.392-006.446-071

Магомедова М.А., Газимагомедова М.М.

*Дагестанский государственный медицинский университет
Республика Дагестан, Махачкала
madi1975@bk.ru*

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА
МЕТИОНИН-СИНТАЗЫ-РЕДУКТАЗЫ ПРИ ОСТРОМ
ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ**

Рассмотрено влияние полиморфных вариантов гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR: 66 A> G) при остром лимфобластном лейкозе у детей 7-11 лет. В исследовании приняли участие 22 ребенка с диагнозом острый лимфобластный лейкоз и группа контроля из 32 человек. Нами установлено, что генотип GG (36,36%) и AG (45,45%) встречается у больных лимфобластным лейкозом, было выявлено снижение индекса массы тела, уровень витамина D был в пределах нормы.

Ключевые слова: полиморфизм, ген MTRR: 66 A> G, лимфобластный лейкоз, дети, рост, масса, индекс массы тела, жизненная емкость легких.

Magomedova M.A., Gazimagomedova M.M.

*Dagestan State Medical University
Russian Federation, Republic of Dagestan, Makhachkala*

**STUDY OF METHIONINE SYNTHASE-REDUCTASE GENE
POLYMORPHISM IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA**

The influence of polymorphic variants of the methionine synthase-reductase gene (MTRR: 66 A> G) in acute lymphoblastic leukemia in children 7-11 years old is considered. The study involved 22 children diagnosed with acute lymphoblastic leukemia and a control group of 32 people. We found that the GG (36.36%) and AG (45.45%) genotypes occur in patients with lymphoblastic leukemia, a decrease in body mass index was detected, and vitamin D levels were within normal.

Keywords: polymorphism, gene MTRR: 66 A> G, lymphoblastic leukemia, children, height, weight, body mass index, vital capacity.

Генная инженерия за короткий срок оказала огромное влияние на развитие различных молекулярно-генетических методов и

позволила существенно продвинуться на пути познания генетического аппарата. Нами исследован полиморфизм гена метионин-синтазы-редуктазы при остром лимфобластном лейкозе. В данной статье представлены результаты статистического анализа сравнения всех факторов по группам переменной «Диагноз», которая состоит из двух групп со значениями: «Контроль» и «Острый лимфобластный лейкоз» с числами наблюдений 32 (59,3%) и 22 (40,7%) соответственно. Для сравнения по количественным показателям используется непараметрический критерий Манна–Уитни, а для сравнения по бинарным и номинальным переменным — критерий Хи-квадрат Пирсона.

Ген MTRR кодирует цитоплазматический фермент метионин-синтазу-редуктазу (МСР). Фермент играет важную роль в синтезе белка и участвует в большом количестве биохимических реакций, связанных с переносом метильной группы. Аминокислота метионин является незаменимой. Но незначительное её количество может образовываться из гомоцистеина путем метилирования его серогруппы. Данные реакции проходят при помощи ферментов фолатного цикла. При нарушении их работы синтез метионина не осуществляется, происходит накопление гомоцистеина в клетках организма и в крови. Такое наблюдается при мутации гена MTRR, который кодирует фермент метионин-синтазу-редуктазу. Последний обеспечивает восстановление фермента метионин-синтазы, который непосредственно переносит метильную группу на гомоцистеин.

Суть мутации заключается в замене аденина (А) на гуанин (G) в 66 позиции (A66G). По мутированному гену синтезируется белок с измененными функциями, у которого в 22 позиции аминокислота изолейцин заменена на метионин (Ile22Met). Цель нашего исследования — анализ ассоциативной связи полиморфизма гена MTR: 66 A> G (BsmI) с риском развития детского церебрального паралича. Биохимические показатели крови занимают особое место и очень важны как для оценки физиологического статуса организма, так и для своевременной диагностики патологических состояний [2–4].

Материалы и методы исследования. Молекулярно-генетические исследования проводились на базе научно-исследовательского института экологической медицины, Дагестанского государственного медицинского университета Минздрава России им. С.А. Абусуева. Всего обследовано 22 пациента в возрасте 7–11 лет с диагнозом лимфобластный лейкоз. Забор материала производился в специализированных медицинских учреждениях Республики Дагестан. Определение полиморфизма гена *MTR*: 66 A> G осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с применением набора реагентов производства ДНК — технологии, РФ. Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-экспресс-кровь» для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями обмена веществ, методом полимеразной цепной реакции с использованием комплекта «Генетика метаболизма фолатов» производитель (R1-N941-N3/4, ДНК-Технология, Россия). Статистический анализ проводился с помощью непараметрических методов в программе (Statistica 10,0.) [1, 2, 5].

Исследование проведено с соблюдением Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и федерального закона номер № 323 ФЗ от 21.11.2011. «Об основах охраны здоровья граждан в РФ». Информированное согласие было получено от всех родителей и опекунов.

На основании табл. 1 можно сделать вывод о том, что в категории «Личные данные» 3 из 6 показателей статистически значимо различаются между двумя сравниваемыми группами. Значимые различия обнаружены для показателя «Возраст, лет» в группе «Контроль» по отношению к группе «Острый лимфобластный лейкоз» (в среднем на 3,1 года; $p=0,0078$); показателя «ИМТ» в группе «Контроль» по отношению к группе «Острый лимфобластный лейкоз» (в среднем на 8,9; $p<0,0001$); показателя «Вес, кг» в группе «Контроль» по отношению к группе «Острый лимфобластный лейкоз» (в среднем на 22,3 кг; $p<0,0001$). Уровень витамина D пределах нормы, индекс массы тела (ИМТ) был снижен в группе больных детей. Значимых изменений в данных жизненная ёмкость легких не выявлено.

Таблица 1

Сравнение двух групп переменной «Диагноз» по количественным показателям (средние±среднеквадратичные отклонения)

Показатель	Диагноз		Уровень р
	контроль (n=32)	острый лимфобластный лейкоз (n=22)	
Личные данные			
Возраст, лет	10,94±3,32	7,86±5,04	0,0078
Витамин D	26,88±7,38	28,18±5,88	0,4865
Жизненная ёмкость легких	2 218,75±1101,15	2390,91±891,71	0,4007
Рост, см	155,09±10,70	154,50±11,19	0,8253
Масса, кг	48,84±12,49	26,51±6,82	<0,0001
ИМТ	20,06±4,15	11,17±2,87	<0,0001

Таблица 2

Распределение показателя «MTRR: -66 A>G» в зависимости от распределения переменной «Диагноз» (число человек и проценты)

Генотип MTRR: -66 A>G	Диагноз		Уровень р (df=2)
	контроль, (n=32)	острый лимфобластный лейкоз (n=22)	
AG	22 (68,75%)	10 (45,45%)	0,1675
GG	5 (15,62%)	8 (36,36%)	
AA	5 (15,62%)	4 (18,18%)	

На основании табл. 2 можно сделать вывод о том, что по данному показателю не обнаружены статистически значимые различия между группами «Контроль» и «Острый лимфобластный лейкоз» показателя «Диагноз».

Наибольшие различия между группами наблюдаются по значению генотипа «AG», которое преимущественно встречается в группе «Контроль» по сравнению с группой «Острый лимфобластный лейкоз» (68,8% vs 45,5% соответственно).

Наименьшее различие между группами наблюдается по значению генотипа «AA». Генотип «GG» (36,36%) превалировал у больных с лимфобластным лейкозом.

Таблица 3

Уравнение Харди–Вайнберга для исследуемых групп

Генотип MTRR: -66 A>G	Наблюдаемые частоты	Ожидаемые частоты	Наблюдаемое количество	Ожидаемое количество	Уровень Р
GG	0,24	0,24	13	13,0	0,4699
AG	0,59	0,50	32	27,0	
AA	0,17	0,26	9	14,0	

На основании табл. 3 можно сделать выводы, что наблюдаемое количество генотипов статистически достоверно не различается с ожидаемым количеством.

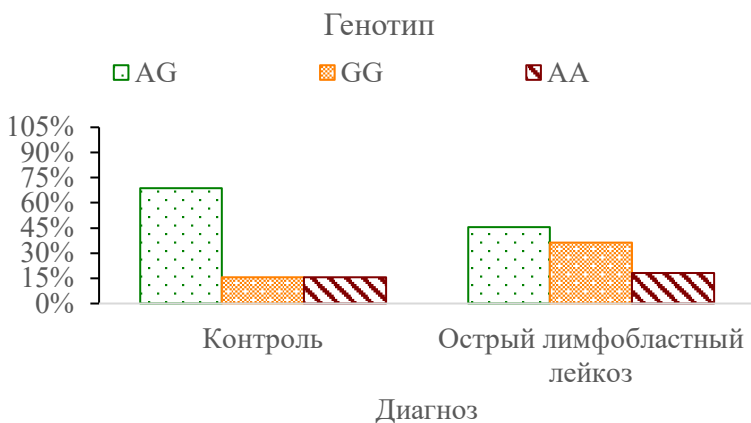


Рис. 1. Структура соотношений показателя «MTRR: -66 A>G» в группах сравнения «Контроль» и «Острый лимфобластный лейкоз»

Нами установлено, что генотип «GG» (36,36%) и «AG» (45,45%) встречается у больных лимфобластным лейкозом, было выявлено снижение индекса массы тела, уровень витамина D был в пределах нормы. Потенциал, который открывает биотехнология и геномика для человека, велик не только в фундаментальной науке, но и в других сферах деятельности и областях знаний. Самое большее влияние биотехнология оказывает на медицину и фармацевтику. Прогнозируется, что в будущем станет возможным диагностика и лечение тех заболеваний, которые имеют статус «неизлечимых».

Список литературы

1. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере (с CD-ROM). 2 изд. СПб., 2003.
2. ГЕНОКАРТА Генетическая энциклопедия. 2019. URL: <https://www.genokarta.ru/gene/MTRR>. (Дата обращения: 18.09.2024). 575.174.015.3:616.155.392-006.446-071
3. Магомедова М.А. Биохимия крови: учебное пособие для студентов медицинских вузов / Дагестанская государственная медицинская академия. Махачкала: Дагестанская

государственная медицинская академия, 2016. 32 с. EDN MIMKHT.

4. Нормативы для оценки физического развития детей и подростков Российской Федерации / Д. Б. Никитюк, В. И. Попов, Н. А. Скоблина [и др.]. Часть 2. Москва: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2023. 446 с. ISBN 978-5-605-00424-0. EDN SWBDWI.

5. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. 512 с.

УДК 577.175.4:616.441-006.6

Падорина Е.В., Яковлев Ю.М., Вольхина И.В.

*Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет*

Санкт-Петербург

e.padorina@yandex.ru, uy24223a@gmail.com

**ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ
ПРИ РАКЕ ЦИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Рак щитовидной железы относится к наиболее часто встречающейся онкологической патологии эндокринных органов. При данном заболевании происходят изменения обмена йодсодержащих гормонов на различных стадиях, в том числе синтеза и активации. Были выявлены изменения структуры рецепторов этих гормонов. Изучение нарушений обмена тиреоидных гормонов при данном заболевании необходимо для диагностики, поиска терапевтических мишеней и мониторинга лечения этого вида онкологии.

Ключевые слова: тиреоидные (йодсодержащие) гормоны; рак щитовидной железы; тиреопероксидаза; дейодиназы.

Padorina E.V., Yakovlev Y.M., Volkhina I.V.

St. Petersburg State Pediatric Medical University

St. Petersburg

**FEATURES OF IODINE-CONTAINING HORMONE
METABOLISM IN THYROID CANCER**

Thyroid cancer belongs to the most frequent oncological pathology of endocrine organs. In this disease, there are changes in the

metabolism of iodine-containing hormones at various stages, including synthesis and activation. Changes in the receptor structure of these hormones have been identified. The study of thyroid hormone metabolism disorders in this disease is necessary for diagnosis, search for therapeutic targets and monitoring of treatment of this type of oncology.

Keywords: *thyroid (iodine-containing) hormones; thyroid cancer; thyroperoxidase; deiodinases.*

Рак щитовидной железы (РЩЖ) относится к наиболее часто встречающейся онкологической патологии эндокринных органов. По данным ВОЗ, за последние 20 лет происходит увеличение показателей заболеваемости РЩЖ на фоне стабильных уровней смертности. В России ежегодно регистрируется более 2000 случаев РЩЖ [1]. По прогнозам, к 2030 г. папиллярный РЩЖ может быть по распространённости вторым типом рака у женщин и третьим — у мужчин [2].

Данный вид опухоли опасен тем, что даже при использовании современных методов лечения крайне тяжело предотвратить метастазирование и возникновение рецидивов. И поэтому для диагностики, поиска терапевтических мишеней и мониторинга лечения этого вида онкологии необходимо углубленное понимание изменений обмена тиреоидных гормонов (ТГ) при РЩЖ. Отмечается, что меняются скорость синтеза ТГ в результате подавления активности тиреопероксидазы, процесс активации ТГ, осуществляемый дейодиназами, соотношение которых меняется в зависимости от стадии заболевания, взаимодействие ТГ с рецепторами тиреоидных гормонов (TR) и т.д.

Целями данного исследования являются систематизация, анализ и обобщение научных данных об изменениях обмена йодсодержащих гормонов при раке щитовидной железы.

РЩЖ непосредственно связан с дефицитом йода, особенно его фолликулярная форма [3]. В результате происходит подавление начальных этапов синтеза тироксина (Т4) посредством уменьшения активности тиреопероксидазы (ТПО, КФ 1.11.1.8), обеспечивающей процесс окисления ионов йода до атомарного.

Снижение продукции Т4 на фоне значительного увеличения содержания в крови тиреотропного гормона (ТТГ) может быть связано с уменьшением содержания рецепторов ТТГ (TSHR) в малигнизированных тиреоцитах, что приводит к снижению экспрессии ТПО и дальнейшему нарушению захвата йода. Часть йода используется клетками дифференцированного РЩЖ на синтез ТГ для собственной пролиферации [4].

Подтверждена положительная экспрессия Na^+ / I^- симпортера (NIS) и TSHR в группе РЩЖ. В эксперименте экспрессия белка NIS и TSHR у пациентов с РЩЖ была значительно ниже, чем в группе здоровых людей [5].

Уровень сывороточного тиреоглобулина (Тг) тесно связан с общей массой щитовидной железы (ЩЖ) *in vivo*, стимуляцией ЩЖ, вызванной ТТГ, и инвазивными операциями, такими как тиреоидэктомия. При осложнении доброкачественной опухоли зобом и тиреоидитом предоперационный уровень Тг также повышается из-за увеличения количества или повреждения фолликулярных клеток. Также исследования показали, что мутация гена Тг может способствовать развитию РЩЖ, препятствуя синтезу гормонов ЩЖ [6].

Синтезированные ТГ используются как клетками-мишенями периферических тканей, так и раковыми клетками.

У здоровых людей ЩЖ вырабатывает преимущественно прогормон Т4 вместе с небольшим количеством биологически активного гормона Т3. Представители семейства дейодиназ (КФ 1.97.1.10) необходимы для активации или деактивации йодсодержащих гормонов. Большая часть Т3 образуется путем ферментативного наружного кольцевого дейодирования Т4 в результате действия дейодиназы 1 типа (D1) и 2 типа (D2). D3 же катализирует дейодинацию внутреннего кольца и разрушает Т4 до рТ3 и Т3 до Т2, поддерживая в норме количество активированных тиреоидных гормонов [7].

В зависимости от расположения в клетке дейодиназы выполняют разные функции:

– D1 находится в плазматической мембране и активирует тиреоидные гормоны, которые впоследствии возвращаются в кровь и поступают к другим клеткам;

– D2 находится в ЭПР и активирует тиреоидные гормоны, которые будут использоваться самой клеткой;

– D3 расположен в плазматической мембране и отвечает за поддержание оптимального количества тиреоидных гормонов на внутри- и внеклеточном уровнях, путем их инактивации [8].

В раковых клетках щитовидной железы T4 индуцирует пролиферацию посредством связывания с рецепторами $\alpha\beta\gamma$ на поверхности мембран. Взаимодействие T4 с рецептором приводит к ингибированию p53-зависимого апоптоза в опухолевых клетках [9].

Исследование папиллярной карциномы щитовидной железы продемонстрировало связь между изменением уровня активности дейодиназы и прогрессирующим заболеванием. Активность D3 при РЩЖ повышается и может привести к субклиническому или даже тяжелому гипотиреозу у пациентов [7].

На ранних стадиях развития РЖЩ может наблюдаться пониженный уровень экспрессии D2 и повышенный D3, что обусловлено работой защитных механизмов по замедлению роста опухолевых клеток, чтобы сократить использование ими тиреоидных гормонов, которые являются стимуляторами клеточного роста.

На поздних же стадиях может повышаться уровень экспрессии D2, и понижаться уровень D3, за счет того, что защитные механизмы по ограничению роста опухолевых клеток перестают работать и раковая клетка начинает получать ТГ для своего роста [8].

ТГ регулируют экспрессию генов-мишеней через гормон-индуцируемые ядерные рецепторы (TR α и TR β) для оказания своих физиологических эффектов.

Нарушение регуляции рецептора гормонов щитовидной железы (TR) β часто встречается при онкологических заболеваниях человека. Восстановление функционального TR β замедляет прогрессирование опухоли на моделях рака щитовидной железы, что указывает на участие TR β в качестве супрессора опухолей. TR β высок в нормальных клетках, а Runx2 (транскрипционный фактор) — в злокачественных клетках.

Молекулярный сигнальный путь связывает эти регуляторы опухолей щитовидной железы, так как белки TR β и Runx2

взаимно экспрессируются в доброкачественных и злокачественных клеточных линиях щитовидной железы. Уровни TR β напрямую влияют на экспрессию Runx2 и связанные с ним эпителиальные и мезенхимальные переходные молекулы, подавляя транскрипционную активность Runx2.

Соотношение опухолевого супрессора TR β и опухолестимулирующего Runx2 может отражать опухолевую агрессию и служить биомаркерами в биопсийных тканях. В соответствии с характеристиками опухолевого промотора уровни белка Runx2 и мРНК были низкими в нормальных и доброкачественных клетках и высокими в недифференцированных раковых клетках, особенно в опухолях III и IV стадии, независимо от типа рака щитовидной железы. Повышенная экспрессия Runx2 и его онкогенных функций была выявлена при прогрессировании папиллярного рака щитовидной железы, что наиболее заметно связано с инвазией и метастазированием и коррелирует с повышенными уровнями ангиогенных факторов, таких как фактор роста эндотелия сосудов.

TR β модулирует Runx2 в клетках щитовидной железы, по крайней мере частично, посредством регуляции экспрессии генов. Так же TR β может подавлять активность промотора Runx2-P1 посредством прямого взаимодействия с мотивами TRE: нелигированный TR β специфически связывается с хроматином, а также с мотивами TRE промотора Runx2 и непосредственно подавляет активность промотора Runx2.

TR β -регуляция Runx2 подтверждена индукцией T3 зависящего от времени и концентрации снижения уровней белка и РНК Runx2. Более того, потеря TR β siRNA привела к увеличению экспрессии Runx2, а также регулируемых Runx2 генов, связанных с прогрессированием опухоли и метастазами. Эти результаты свидетельствуют о T3-TR β -опосредованной регуляции уровней Runx2.

Открытие сигнализации TR β -Runx2 подтверждает растущую роль TR β в качестве супрессора опухолей и открывает новый путь для вмешательства [10].

Таким образом, при РЩЖ происходят значительные изменения обмена йодсодержащих гормонов, при этом

патологические нарушения развиваются не только в щитовидной железе, но и в клетках, чувствительных к тиреоидным гормонам. Знания о патогенезе РЩЖ позволяют избежать радикальных традиционных методов лечения в виде тиреоидэктомии и разработать новые методы диагностики и лечения, нацеленные на конкретные нарушения обмена ТГ.

Список литературы

1. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования щитовидной железы (с73) в Санкт-Петербурге. Заболеваемость, смертность, достоверность учета, погодичная летальность и выживаемость больных // Вопросы онкологии. 2020. Т66, №5. С.479-488.
2. Лазарев А.Ф., Захарова И.М., Петрова В.Д. Факторы риска развития рака щитовидной железы // Российский онкологический журнал. 2021. Т. 26, № 4. С. 129–144. doi: 10.17816/onco105514
3. Der E.M. Follicular Thyroid Carcinoma in a Country of Endemic Iodine Deficiency (1994–2013) // Journal of Thyroid Research. 2018. P.6516035. doi: 10.1155/2018/6516035
4. Зяблов Е.В., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю. Рак щитовидной железы: современные концепции этиологии и патогенеза // Научное обозрение. Медицинские науки. 2016. № 3. С. 37-61.
5. Li J., Dong J.-N., Zhao Z., Lv Q., Yun B., Liu J.-Q., Cai X.-Y. Expression of sodium/iodide transporters and thyroid stimulating hormone receptors in thyroid cancer patients and its correlation with iodine nutrition status and pathology // Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018. Vol. 22, №14. P.4573-4580. doi: 10.26355/eurrev_201807_15513.
6. Li S., Ren C., Gong Y., Ye F., Tang Y., Xu J., Guo C., Huang J. The Role of Thyroglobulin in Preoperative and Postoperative Evaluation of Patients With Differentiated Thyroid Cancer // Front Endocrinol (Lausanne). 2022. №13. P.872527. doi: 10.3389/fendo.2022.872527
7. Peeters R.P., Visser T.J. Metabolism of Thyroid Hormone. 2000.

8. De Stefano A.M., Porcelli T., Schlumberger M., Salvatore D. Deiodinases in thyroid tumorigenesis // *Endocr Relat Cancer*. 2023. №30 (5). P.е230015. doi: 10.1530/ERC-23-0015

9. Davis P.J., Lin H.Y., Hercbergs A., Mousa S.A. Actions of L-thyroxine (T4) and Tetraiodothyroacetic Acid (Tetrac) on Gene Expression in Thyroid Cancer Cells // *Genes (Basel)*. 2020. №11(7). P.755. doi: 10.3390/genes11070755

10. Carr F.E., Tai P.W.L., Barnum M.S., Gillis N.E., Evans K.G., Taber T.H., White J.H., et al. Thyroid Hormone Receptor- β (TR β) Mediates Runt-Related Transcription Factor 2 (Runx2) Expression in Thyroid Cancer Cells: A Novel Signaling Pathway in Thyroid Cancer // *Endocrinology*. 2016. №157(8). P.3278-92. doi: 10.1210/en.2015-2046

УДК [576.314+577.112.824]:616-022.12

Петропилюк М.А., Лозовая А.А., Чайка Н.А.

*Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет*

Санкт-Петербург

maria.petropilyuk@yandex.ru; annialo2004@gmail.com;

nadchajka@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН И АЛЬБУМИНОВ

Развитие эндогенной интоксикации сопровождается окислительной модификацией альбуминов, изменением структуры эритроцитарных мембран, активацией в них перекисного окисления липидов и нарушением реологических свойств крови. Своевременное выявление и воздействие антиоксидантных препаратов на перечисленные процессы снижает проявления эндогенной интоксикации.

Ключевые слова: *эндогенная интоксикация (ЭИ), альбумин, эритроцитарная мембрана, свободные радикалы, малоновый диальдегид, α -токоферол.*

Petropilyuk M.A., Lozovaya A.A., Chajka N.A.
St. Petersburg State Pediatric Medical University
St. Petersburg

EFFECT OF ENDOGENOUS INTOXICATION ON THE STATE OF ERYTHROCYTE MEMBRANES AND ALBUMINS

The development of endogenous intoxication is accompanied by oxidative modification of albumins, changes in the structure of red blood cell membranes, activation of lipid peroxidation in them and impaired rheological properties of blood. Timely detection and administration of antioxidant drugs to these processes reduces the manifestations of endogenous intoxication.

Keywords: *endogenous intoxication (EI), albumin, erythrocyte membrane, free radicals, malonic dialdehyde, α -tocopherol.*

В настоящее время эндогенной интоксикации (ЭИ) отводится важная роль в патогенезе различных заболеваний, обусловленных накоплением в тканях и биологических жидкостях организма продуктов нарушения обмена веществ, деструктивных клеточных и тканевых структур. К таким заболеваниям относят перитонит, абдоминальный сепсис, различные виды гепатитов, инфаркт миокарда и др. Образовавшиеся эндотоксины способствуют развитию различных осложнений: острой почечно-печеночной недостаточности, сердечно-сосудистой недостаточности, острого респираторного дистресс-синдрома, что может привести к синдрому мультиорганной недостаточности. ЭИ сопровождается нарушением тонуса периферических сосудов, реологических свойств крови, изменением структуры мембран форменных элементов. Перечисленные изменения ведут к тканевой гипоксии, которая является важным показателем ЭИ. Ее течение усугубляется снижением функции органов детоксикации и экскреции. Образующиеся токсические метаболиты воздействуют на физико-химические свойства альбуминов и оказывают влияние на эритроцитарные мембраны, что приводит к изменению их структуры [1, 2].

Как известно, мембрана эритроцитов представляет собой пластичную трехслойную молекулярную мозаику из липидов и белков гликопротеинов, которые в зависимости от расположения подразделяются на периферические и интегральные. Первые

включают белки цитоскелета, сохраняющие исходную форму эритроцита. Основными компонентами мембранного скелета эритроцитов являются спектрины, актин, анкирин, а также белки полос 4.1 и 4.9. В группу интегральных белков входит фракция 3, а также гликофорины А, В, С, О, Е, которые определяют отрицательный заряд, способствующий отталкиванию эритроцитов друг от друга и от эндотелия сосуда. Они обладают активностью только в том случае, если находятся в гидрофобной части бислоя, где приобретают необходимую для активности пространственную конфигурацию. [3]

Особый интерес имеют липиды эритроцитарной мембраны, которые представлены фосфолипидами (фосфатидилхолином, фосфатидилэтаноамином, фосфатидинозитолом, фосфатидилсерин), гликолипидами (гликозилцерамидом, галактозилцерамидом), сфинголипидами (сфингомиелином) и стеринами (холестерином). Расположение липидов в мембране эритроцитов характеризуется асимметрией. Она необходима для поддержания механических свойств мембраны, формы эритроцитов, а также их способности к деформации. Фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин локализованы преимущественно во внутреннем слое мембраны, тогда как фосфатидилхолин и сфингомиелин расположены в ее наружном слое. Холестерин равномерно распределен между двумя слоями. Расположенный на наружной мембране фосфатидилсерин быстрее подвергается перекисному окислению и служит пусковым механизмом к агрегации эритроцитов, их адгезии к эндотелию сосудов и последующему апоптозу эритроцитов.[3]

Другим параметром, требующим особого изучения, является сывороточный альбумин. Это — одноцепочечный белок, состоит из 585 аминокислот и имеет три похожих домена (I–III). Каждый из доменов включает по два субдомена (А и В). Субдомен А образован шестью, а субдомен В — четырьмя α -спиралями, связанными в гибкие петли. Молекула альбумина не покрыта углеводной оболочкой и может связывать самые разные молекулы и атомы. Связывая лекарственные препараты и токсические вещества, альбумин транспортирует их к тканям мишеням или местам их биотрансформации. Нарушение транспортной функции альбумина ведет к накоплению токсичных компонентов.

Накопленные токсины блокируют места связывания молекул альбумина, которое осуществляется по трем центральным сайтам доменов и нескольким вторичным, что ведет к снижению эффективности проводимого медикаментозного лечения.

Альбумин играет важную роль в транспорте и детоксикации эндогенных и экзогенных соединений. У больных с эндогенной интоксикацией наблюдается снижение общей и эффективной концентрации альбумина, уменьшение резерва связывания альбумина, повышение индекса токсичности плазмы.

Цистеиновые остатки альбумина (кроме цистеина в положении 34) связаны дисульфидными связями. Cys 34 определяет гетерогенность изоформ альбумина, то есть в зависимости от состояния данного остатка белок разделяется на три фракции [4]:

1) меркаптальбумин (неокисленная группа) со свободной сульфгидрильной группой;

2) немеркаптальбумин-1 (обратимо окисленная группа) формирует дисульфидные связи при участии цистеина, гомоцистеина, глутатиона;

3) немеркаптальбумин-2(необратимо окисленная группа) тиол цистеина в 34 положении окисляется до сульффиновой или сульфокислоты.

В плазме крови здоровых взрослых людей преобладает меркаптальбумин (70%)

В крови пациентов с ЭИ обнаруживаются неокисленная форма альбумина — меркаптальбумин и окисленная — преимущественно немеркаптальбумин-2.

Меркаптальбумин проявляет антиоксидантные свойства, которые проявляются в способности цистеина в 34 положении действовать в роли «ловушки» для активных форм кислорода. Механизм защиты от свободных радикалов обусловлен связыванием с альбумином ионов меди и железа. Как прооксиданты они вступают в реакцию Фентона с перекисью водорода, супероксида, продуцируя гидроксильные радикалы и восстанавливая сульфгидрильную группу Cys-34, тем самым катализируя образование свободных форм кислорода.

В условиях эндогенной интоксикации тиол Cys-34 меркаптальбумина самостоятельно окисляется до сульфеновой

кислоты, которая является промежуточным продуктом. Далее она либо окисляется до конечных продуктов (сульфиновой кислоты или сульфокислоты), что приводит к накоплению необратимо окисленного немеркаптальбумина-2; либо, вступая в реакцию с глутатионом или свободным цистеином, превращается в дисульфид, то есть образует немеркаптальбумин-1, который способен вернуться в восстановленную форму — меркаптальбумин. (рис. 1).

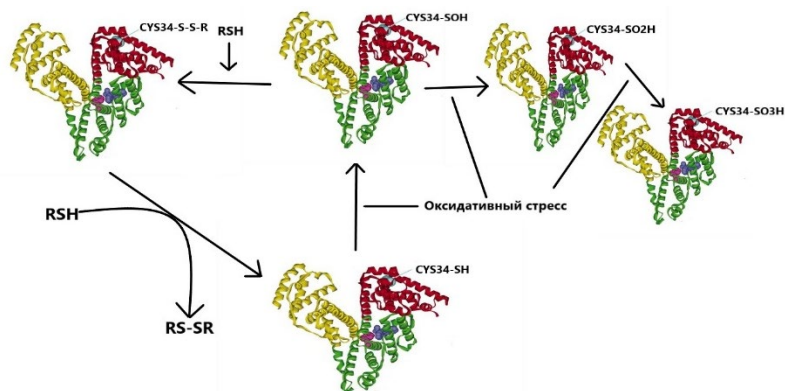


Рис. 1. Взаимопревращение изоформ альбумина в условиях эндогенной интоксикации

Немеркаптальбумин, подвергаясь окислительной модификации, становится способным к проявлению прооксидантных свойств. Прооксидантные свойства обусловлены связыванием жирных кислот в доменах альбумина, в результате чего меняется конформация белка и повышается редокс потенциал меди в центре связывания, что приводит к окислению тиольной группы Cys-34 и, следовательно, активной продукции свободных радикалов [5].

Проявлением прооксидантных свойств служит активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитарной мембране. Это доказано в работе [6], в которой авторами проводилась инкубация эритроцитов с окисленным альбумином. Значимые изменения получены в количественном соотношении липидов эритроцитарной мембраны: увеличено содержание

эфиров холестерина, лизофосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидилсерина, а уменьшено — фосфатидилэтаноламина и фосфатидилинозитола. Выявлено увеличение содержания малонового диальдегида (МДА), как конечного продукта перекисного окисления перечисленных липидов. Дальнейшее воздействие свободных радикалов приводит к изменению в структуре мембран и усиленному гемолизу.

При инкубации окисленного альбумина с мощным антиоксидантом — α -токоферолом — выявлена возможность снижения влияния окисленного альбумина на перекисную трансформацию мембран эритроцитов. Показано, что при предварительной инкубации окисленного альбумина с α -токоферолом не происходит повышения уровня МДА в мембранах эритроцитов, следовательно не происходит активации ПОЛ. Эти данные подтверждают гипотезу о том, что α -токоферол способствует восстановлению антиоксидантных свойств альбумина и выводит из сферы реакции активные свободные радикалы, продуцируемые окисленным альбумином. Полученные данные приобретают особое значение при патологических состояниях, в патогенезе которых ведущую роль играет усиление свободно радикального окисления.[6]

При этом механизм развития липидной дисфункции заключается в следующем: повышается образование окисленных липидов и концентрация внутриклеточного Ca^{2+} за счет увеличения неспецифической проницаемости мембран при окислении ее компонентов, что вызывает активацию кальций зависимой фосфолипазы A_2 . Этот фермент реализует свою функциональную активность несколькими способами: Фосфолипаза A_2 способствует высвобождению из ДАГ (диацилглицерола) арахидоновой кислоты, при метаболизме которой образуются биологически активные вещества, выступающие в качестве медиаторов воспаления (простагландинов и др.), а также гидролизует фосфолипиды в структуре мембран эритроцитов до жирных кислот и лизофосфолипидов, что приводит к их деструктивным нарушениям.

Кроме этого, было выяснено, что окисленный альбумин вызывает увеличение агрегации эритроцитов и повышение

прочности их агрегатов. В основе данного процесса лежит «мостиковая теория». Происходит изменение нативной конформации доменов альбумина, в результате чего увеличивается число гидрофобных остатков на поверхности глобул и формируются крупные белковые конгломераты, меняющие реологические свойства крови. Молекула альбумина имеет отрицательный заряд, но в то же время обладает дипольным моментом, что обуславливает разность зарядов в разных ее доменах. В результате чего молекулы альбумина становятся способными осуществлять диполь-дипольное притяжение как между собой, так и с эритроцитами, что подтверждает мостиковую теорию [6].

Таким образом, оценивая состояния эритроцитарных мембран и альбуминов при эндогенной интоксикации, было выяснено, что ЭИ вызывает окислительную модификацию альбуминов, приводит к изменению спектра фосфолипидов и к активации ПОЛ мембран эритроцитов. Окисленный альбумин увеличивает агрегацию эритроцитов, меняя реологические свойства крови. Своевременное применение антиоксидантных препаратов приводит к снижению содержания окисленных форм альбумина и восстановлению его антиоксидантных свойств, а также нормализации активности ПОЛ мембран эритроцитов.

Список литературы

1. Чайка Н.А., Вольхина И.В. Оценка индуцированных процессов перекисного окисления липидов и маркеров повреждения миокарда и эритроцитов при экспериментальном перитоните. // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. 2022, Т. 23, С.164-174.

2. Чайка Н.А. Ферменты антиоксидантной системы крови и миокарда при эндогенной интоксикации. //Сборник научных трудов 4-й международной конференции «современные достижения химикобиологических наук в профилактической и клинической медицине», посвященной 135-летию со дня рождения профессора В. В. Лебединского, 2023, Часть 2, с. 149-154.

3. Боронихина Т. В., Ломановская Т. А., Яцковский А.Н. Плазмолемма эритроцитов и ее изменения в течение жизни клеток. // Журнал анатомии и гистопатологии. 2021. Т. 10 № 2.

4. Белинская Д.А., Воронина П.А., Гончаров Н.В. Интегративная роль альбумина: эволюционные, биохимические и патофизиологические аспекты. // Российский физиологический журнал им. Сеченова. 2021. Т. 107, № 12. С. 1455-1489.

5. AlessioBocedi, Giada Cattani, Lorenzo Stella. Thiol disulfide exchange reaction in human serum albumin: the apparent paradox of the redox transitions of Cys34//The FEBS Journal 2018. Volume 285, Issue 17. P. . 3225-3237.

6. Егорихина М.Н., Левин Г.Я., Костина О.В. Влияние окисленного альбумина на перекисную трансформацию клеточных мембран у пациентов с ожогами // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 6. С. 61.

УДК 577.15:616.8-006-07

Пронина Ю.М., Вольхина И.В.

*Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет*

Санкт-Петербург

jul.pronina16@yandex.ru

ЗНАЧЕНИЕ НЕЙРОН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЕНОЛАЗЫ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Нейрон-специфическая енолаза играет важную роль в диагностике, мониторинге лечения и оценке прогноза различных заболеваний, связанных с активацией гликолиза в клетках соответствующих органов и тканей. Ее активность повышается в сыворотке крови у пациентов с ишемическим инсультом, мелкоклеточным раком легких, нейронэндокринными опухолями желудочно-кишечного тракта и т.д.

Ключевые слова: *нейрон-специфическая енолаза; гликолиз; биомаркер; нейрон.*

Pronina J.M., Volkhina I.V.

St. Petersburg State Pediatric Medical University

St. Petersburg

SIGNIFICANCE OF NEURON-SPECIFIC ENOLASE IN THE DIAGNOSIS OF DISEASES

Neuron-specific enolase plays an important role in the diagnosis, treatment monitoring, and prognosis assessment of various diseases associated with the activation of glycolysis in the cells of the corresponding organs and tissues. Its activity is increased in serum in patients with ischaemic stroke, small cell lung cancer, neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract, etc.

Keywords: *neuron-specific enolase; glycolysis; biomarker; neuron.*

Периодические профилактические обследования играют ключевую роль в раннем выявлении различных патологий. Это позволяет предотвратить прогрессирование болезни, ее переход в хроническую форму и снижает риск возникновения сопутствующих заболеваний, что положительно сказывается на работоспособности, социальной активности и общем качестве жизни человека.

Енолаза (КФ 4.2.1.11) является ферментом гликолиза и катализирует превращение 2-фосфоглицериновой кислоты в фосфоенолпириват с отщеплением H_2O . У человека присутствует 3 гена, определяющих изоферменты енолазы: ген ENO1 кодирует α -субъединицу; ген ENO2 — γ -субъединицу; ген ENO3 — β -субъединицу.

Наиболее активны гомодимеры: α -енолаза встречается в цитоплазме большинства клеток, β -енолаза обнаруживается преимущественно в мышечной ткани. Нейронспецифическая енолаза (NSE) является маркером нейронов и периферических нейроэндокринных клеток, которые существуют в виде $\gamma\gamma$ или $\alpha\gamma$ димерных изоферментов. $\gamma\gamma$ -изоформа NSE экспрессируется в нейронах, $\alpha\gamma$ -форма — в микроглии, олигодендроцитах и астроцитах [1]. Измерение активности NSE в сыворотке крови и спинномозговой жидкости имеет важное клиническое значение [2; 3].

Целями данного исследования стали изучение структуры, функций и значимости нейрон-специфической енолазы в диагностике различных заболеваний по данным современной научной литературы.

NSE является биомаркером повреждения нейронов при травме спинного мозга и многих других заболеваниях ЦНС, в том числе связанных с судорогами [1; 4]. После травмы спинного мозга экспрессия и активность NSE заметно повышаются в глиальных и нейрональных клетках, что указывает на роль фермента в воспалении после травмы [1].

Определение уровня NSE в сыворотке крови может быть потенциальной прогностической и терапевтической мишенью при инсульте у пациентов с артериальной гипертензией [5].

NSE обладает прогностическим потенциалом при различных неврологических расстройствах. Уровни NSE в сыворотке значительно повышены у пациентов с неблагоприятным неврологическим исходом при различных состояниях [1]. Повышенный уровень NSE считается маркером окислительного повреждения и лежит в основе некоторых нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Хантингтона, атаксию Фридрейха, наследственную спастическую параплегию, редкие семейные формы болезни Паркинсона, болезнь Альцгеймера и боковой амиотрофический склероз [1].

γ -Енолаза активироваться при воспалении и способствовать пролиферации опухоли в условиях гипоксии путем усиления гликолиза. Повышенная экспрессия NSE способствует реализации эффекта Варбурга, что приводит к выделению энергии и синтезу АТФ в клетках растущей опухоли. С-концевая часть в строении γ -енолазы участвует в снижении влияния лекарственных препаратов на трансформированные клетки и предотвращает их деградацию [6].

NSE при стимуляции может перемещаться к клеточной поверхности для активации сигнальных путей, способствующих выживанию, и увеличивать миграцию опухолевых клеток. Результатом действия NSE в раковых клетках является ремоделирование их цитоскелета с формированием актиновых филаментов, облегчающих инвазию клеток. Повышение активности γ -енолазы в сыворотке крови может быть связано как

с повреждениями нервной ткани, так и с опухолевым ростом, что часто используется при диагностике и лечении нейроэндокринных опухолей [6].

В качестве биомаркера NSE получила широкое признание в диагностике доброкачественных заболеваний и злокачественных опухолей [7]. Определение NSE в пуповинной крови предоставляет раннюю постнатальную возможность подтверждения диагноза нейробластомы у новорожденных [8].

Одним из показаний для анализа крови на NSE является мелкоклеточный рак легкого (SCLC) [9], который часто дает метастазы на ранней стадии из-за его низкой дифференцировки, высокой злокачественности и быстрого роста. И поэтому для профилактики и лечения SCLC очень важна ранняя диагностика. Хорошим ответом на химиотерапию является временное увеличение концентрации данного онкомаркера через 3 суток после 1-го цикла и быстрое снижение его уровня до нормы в течение следующей недели. Незначительный рост нейронспецифической енолазы указывает на доброкачественные патологии легких [9].

NSE используется для постановки диагноза нейроэндокринных опухолей желудочно-кишечного тракта [10], в частности, был предложен в качестве потенциального биомаркера для диагностики аденокарциномы желудка [7].

Таким образом, NSE играет важную роль в качестве биомаркера в диагностике, мониторинге лечения и оценке прогноза различных заболеваний, связанных с активацией гликолиза в клетках соответствующих органов и тканей.

Список литературы

1. Haque A., Polcyn R., Matzelle D., Banik N.L. New Insights into the Role of Neuron-Specific Enolase in Neuro-Inflammation, Neurodegeneration, and Neuroprotection. // *Brain Sci.* 2018. V.8(2). P. 33. doi: 10.3390/brainsci8020033.

2. Babkina A.S., Lyubomudrov M.A., Golubev M.A., Pisarev M.V., Golubev A.M. Neuron-Specific Enolase-What Are We Measuring? // *Int J Mol Sci.* 2024;25(9):5040. doi: 10.3390/ijms25095040

3. Пронина Ю.М. Онкомаркер нейрон-специфическая енолаза // *FORCIPE.* 2023. Vol. 6. Suppl. 2. С. 208.

4. Shaik A.J., Redd K., Mohammed N., Tandra S.R., Kandadai R.M., Kss S.B. Нейроспецифическая енолаза как маркер повреждения нейронов, связанного с судорогами. // *Neurochem Int.* 2019. V.131. P.104509. doi: 10.1016/j.neuint.2019.104509
5. Gao L., Xie J., Zhang H., Zheng H., Zheng W., Pang C., Cai Y. Neuron-specific enolase in hypertension patients with acute ischemic stroke and its value forecasting long-term functional outcomes. // *BMC Geriatr.* 2023. V.23. P. 294. doi: 10.1186/s12877-023-03986-z
6. Xu C.-M., Luo Y.-L., Li S., Li Z.-X., Jiang L., Zhang G.-X., Owusu L., Chen H.-L. Multifunctional neuron-specific enolase: its role in lung diseases. // *Biosci Rep.* 2019. V.39(11). P.BSR20192732. doi: 10.1042/BSR20192732
7. Luo H., Shen K., Sun H., Li R., Wang Z., Xie Z. Clinical significance of serum neuron-specific enolase in gastric adenocarcinoma // *Medicine (Baltimore)* 2020. V.99(16). P.e19829. doi: 10.1097/MD.00000000000019829.
8. Isgro M.A., Bottoni P., Scatena R. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects // *Adv Exp Med Biol.* 2015. V.867. P.125-43. doi: 10.1007/978-94-017-7215-0_9
9. Tiseo M., Ardizzoni A., Cafferata M.A., Loprevite M., Chiamondia M., Filiberti R., Marroni P., Grossi F., Paganuzzi M. Predictive and prognostic significance of neuron-specific enolase (NSE) in non-small cell lung cancer // *Anticancer Res.* 2008. V.28(1B). P.507–513.
10. Ahmed M. Gastrointestinal neuroendocrine tumors in 2020 // *World J Gastrointest Oncol.* 2020. V.12(8). P.791-807. doi: 10.4251/wjgo.v12.i8.791

Рейпольская Т. Ю.

*Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова*

Санкт-Петербург

23091991tink@mail.ru

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ IN VIVO И IN VITRO ТОЧЕК
ПРИЛОЖЕНИЯ, СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ И ПРИКЛАДНЫХ
АСПЕКТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПЕПТИДА ХУМАНИНА
И ЕГО СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ**

В сфере биомедицинских исследований открытие и изучение митохондриальных пептидов открыло новые пути понимания патогенеза и лечения множества заболеваний. Среди них особое место занимает хуманин, небольшой пептид, закодированный в митохондриальной ДНК. Данная статья представляет собой систематизированные сведения по многогранной роли хуманина, подчеркивая его важнейшие функции в клеточной защите, его непосредственное влияние на возрастные заболевания и его многообещающий терапевтический потенциал. Цель статьи — представить новейшие научные исследования, проведенные методами in vitro и in vivo, дающие новые данные о потенциальных медицинских применениях обсуждаемого пептида. Будут представлены работы, представляющие молекулярные механизмы его действия, которые потенциально могут стать отправной точкой для диагностических и терапевтических применений.

Ключевые слова: хуманин, митохондриогенез, аналоги хуманина; пептиды митохондриального происхождения; нейродегенеративные заболевания; нейропротекторное действие, нейропротекторный эффект.

Reypol'skaya T.Y.

Pavlov First St. Petersburg State Medical University

St. Petersburg

**THE FINDINGS OF IN VIVO AND IN VITRO RESEARCH ON
THE APPLICATION POINTS, SIGNALING PATHWAYS, AND
APPLIED ASPECTS OF THE MITOCHONDRIAL PEPTIDE
HUMANIN AND ITS SYNTHETIC DERIVATIVES**

In the realm of biomedical research, the discovery and study of mitochondrial peptides have unveiled new pathways for understanding and treating a myriad of diseases. Among these, Humanin, a small peptide encoded within the mitochondrial DNA, emerges as a beacon of hope. This introductory overview embarks on a journey through the multifaceted role of Humanin, highlighting its critical functions in cellular defense, its profound impact on age-related diseases, and its promising therapeutic potential. The aim of the article is to present the latest scientific research, conducted using in vitro and in vivo methods, contributing new data on the potential medical applications of the discussed peptide. Works presenting the molecular mechanisms of its action, potentially constituting a starting point for diagnostic and therapeutic applications, will be presented.

Keywords: *humanin, mitochondriogenesis, humanin analogues; mitochondrial-derived peptides; neurodegenerative diseases; neuroprotective action neuroprotective effect.*

Humanin (HN) — это митохондриальный пептид, который кодируется в митохондриальном геноме геном MT-RNR2 рибосомальной РНК 16S. По структуре пептид HN содержит 21 аминокислоту, когда его мРНК транслируется в митохондриях, и 24 аминокислоты, если пептид перемещается в цитоплазму. Однако количество аминокислот в HN зависит от сайта трансляции. HN обладает выраженными антиоксидантными, цитопротекторными и антиапоптотическими свойствами. [1]. HN ингибирует апоптоз при лечении остеопороза, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета и нейродегенеративных заболеваний, что подтверждается исследованиями. Он также показывает многообещающие результаты против TNF- α при лечении онкологических заболеваний. Исследование других пептидов, полученных из митохондрий, в т.ч. аналогов хуманина, предлагается в качестве перспективной стратегии против окислительного стресса и заболеваний, связанных с апоптозом [2]. Ученые Wijenayake и Storey рассматривали роль HN в устойчивости к воздействию разных типов стресса у животных, чтобы раскрыть терапевтический потенциал HN для лечения нейродегенеративных и метаболических заболеваний. Они фокусируются на функции HN при гибернации, аноксии и

устойчивости к замораживанию, определяя его участие в антиапоптотических путях, инсулиновой сигнализации и митохондриальной функции. В этом исследовании обсуждаются потенциальные методы лечения, направленные на повышение устойчивости клеток к стрессу, а также теоретические предпосылки понимания борьбы с болезнями с помощью естественных механизмов выживания [3].

Исследования Morris и соавт. концентрируются на взаимодействии HN с BAX (BCL-2-ассоциированный регулятор апоптоза X), выясняя его механизм ингибирования митохондриально-опосредованного апоптоза. Показано, что HN связывается с BAX, это приводит к его значительным структурно-конформационным изменениям и секвестрации в специальные волокна, что в дальнейшем приводит к ингибированию способности BAX увеличивать проницаемость митохондриальной наружной мембраны, — критический шаг в пути апоптоза. С-концевая мембранная спираль BAX играет решающую роль в этом процессе. Кроме того, специфические мутации в HN, которые влияют на его антиапоптотическую активность, также влияют на морфологию полученных волокон. Это исследование раскрывает новый механизм, с помощью которого HN препятствует проапоптотической активности BAX, подчеркивая потенциал нацеливания таких взаимодействий для терапевтических стратегий против заболеваний, характеризующихся чрезмерным апоптозом [4]. Большая часть исследований, определенных для целей данной работы, связывает применение вышеуказанных механизмов в основном с областью неврологии.

Thiankhw и соавт. подчеркивают важную роль HN в снижении рисков возникновения и осложнений нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, путем снижения окислительного стресса и нейровоспаления. Он влияет на различные клеточные процессы и обеспечивает когнитивные преимущества, поддерживая синаптическую целостность и модуляцию нейротрансмиттеров. HN также обеспечивает нейропротекторное действие при болезни Паркинсона и возрастной макулярной дегенерации, предотвращая потерю митохондрий. Это подчеркивает его широкий терапевтический

потенциал, предлагая новые пути для лечения нейродегенеративных заболеваний [5]. Также в исследовании Кима и соавт. были изучены физиологические эффекты HN и его потенциал в качестве компонента, служащего для улучшения функции митохондрий и обеспечения защиты от болезни Паркинсона. Концепция исследования заключалась в том, чтобы на основе измерения уровней HN в плазме у пациентов с болезнью Паркинсона и в животных моделях болезни Паркинсона оценить эффект интраназального введения HN. Результаты показали, что хотя уровни HN в организме человека не были напрямую связаны с болезнью Паркинсона, лечение HN может вызывать его естественную экспрессию и способствовать митохондриальному биогенезу. Важно, что HN, как было показано, обеспечивает нейропротекцию и поведенческое улучшение в моделях болезни Паркинсона, в первую очередь за счет активации сигнального пути PI3K/AKT, который поддерживает усиленный митохондриальный биогенез [6].

Обзор исследований клеточных и животных моделей, проведенный учеными Karachaliou и Livaniou, был направлен на выяснение нейропротекторных эффектов и механизмов действия HN и его аналогов против нейродегенеративных заболеваний, подчеркивая, что Humanin взаимодействует с тремя ключевыми молекулами и путями — IGFBR3, Вах и сигнальным путем PI3K/AKT — обеспечивая некоторую цитопротекцию и усиливая митохондриальный биогенез. Это способствует его нейропротекторному действию при таких заболеваниях, как болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера [7].

Однако следует отметить, что защитные эффекты HN, связанные с лечением заболеваний кровеносной системы, также интенсивно исследуются. Янг и др. исследовали роль HN в борьбе с сердечно-сосудистыми заболеваниями, изучая его внутриклеточные взаимодействия. Полученный из митохондриальной ДНК HN активирует АМПК, улучшает чувствительность к инсулину и усиливает метаболизм. Он предотвращает апоптоз, блокируя транслокацию Вах, снижает окислительный стресс, восстанавливая синтез митохондриального глутатиона, и защищает эндоплазматический ретикулум от стресса. Понимание механизмов HN может

привести к таргетной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, потенциально направленной на атеросклероз, ишемию миокарда и другие связанные с ними состояния [8].

Юнг и соавт. обнаружили, что HN помогает восстановиться после внутримозгового кровоизлияния, облегчая транспорт митохондрий и модулируя фенотип микроглии. Известно, что астроциты являются неотъемлемым компонентом нейроваскулярной единицы, где они действуют как гомеостатические регуляторы, особенно после травм головного мозга, таких как инсульт. Одним из процессов, посредством которых астроциты модулируют гомеостаз, является высвобождение функциональных митохондрий, которые захватываются другими клетками для улучшения их функции. Астроциты высвобождают митохондрии и HN, которые поглощаются микроглией, что приводит к повышению его экспрессии. Это повышает фагоцитарную активность и уменьшает воспаление. В мышинных моделях внутривенное введение HN улучшило неврологический дефицит и привело к снижению последствий от гематом после внутримозгового кровоизлияния. Эти благоприятные биологические эффекты, возникающие в ответ на введение HN, оправдывают исследования этого митохондриального пептида как терапевтической мишени для лечения состояний, связанных с патологиями мозгового кровообращения. [9].

Российско-белорусская группа (Dabravolski et al.) исследовала роль HN в смягчении сердечно-сосудистых заболеваний, углубляясь в его молекулярные механизмы, и выявила несколько кардиопротекторных эффектов: он ингибирует апоптоз, блокируя белки семейства Вах и Bcl-2, играющие ключевую роль в митохондриально-опосредованной гибели клеток. Противовоспалительное действие достигается за счет ослабления сигнализации NF-κB, снижения продукции провоспалительных цитокинов. HN также повышает чувствительность к инсулину и влияет на метаболизм глюкозы за счет активации пути IRS/PI3K/АКТ, что имеет решающее значение для энергетического баланса клеток. Кроме того, он защищает от окислительного стресса, активируя антиоксидантные ферменты и поддерживая целостность митохондрий. Эти механизмы в

совокупности подчеркивают потенциал HN как терапевтической мишени для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, основываясь на его многогранной роли в клеточной защите и регуляции метаболизма [10]. Аналоги HN также являются очень важной областью исследований. Ученые Ван и другие исследовали роль HN в развитии резистентности к инсулину при синдроме поликистозных яичников (СПКЯ). Они измерили уровни HN в фолликулярной жидкости пациентов с СПКЯ и изучили влияние аналога хуманина HNG (с заменой серина на глицин в 14 положении) в модели крысы с СПКЯ. Более низкие уровни хуманина были обнаружены у пациентов с СПКЯ с инсулинорезистентностью. У крыс HNG снижал уровень глюкозы и инсулина натощак, улучшал чувствительность к инсулину в клетках яичников. Это открытие подтверждает потенциальное будущее использование аналога хуманина HNG в качестве терапевтического препарата для пациентов с инсулинорезистентностью при СПКЯ.

Исследователи Велентца и соавт. изучали, может ли HN, особенно его аналог HNG, противодействовать ухудшению роста костей, вызванному венетоклаксом, — препаратом, который используется для лечения хронических лимфолейкозов. Они использовали *ex vivo* культуры плюсневых костей крыс, образцы пластин роста человека и *in vivo* модели нейробластомы у мышей для оценки лечения. Венетоклаксом тормозил рост костей, но совместное лечение с HNG не только устраняло это нарушение, но и нормализовало гистологические изменения, вызванные венетоклаксом. Молекулярно HNG действовал путем подавления проапоптотических белков Вах и p53, ключевых участников процесса апоптоза, в костных тканях. Хотя исследование *in vivo* на мышцах не показало значительных результатов по подавлению эффектов, приводящих к торможению роста с HNG в тестируемой дозе, результаты *ex vivo* убедительно свидетельствуют о том, что HN может минимизировать проблемы роста костей, вызванные венетоклаксом, путем восстановления микроструктуры пластинки роста. Это исследование подчеркивает потенциал HN как терапевтической стратегии для предотвращения побочных эффектов, связанных с ростом костей у пациентов, проходящих лечение венетоклаксом, подчеркивая необходимость дальнейших

исследований для определения оптимальной дозировки и методов введения для клинического применения [12].

Исследование Чжоу и соавт. изучает эффективность Humanin G (HNG) при лечении внутриматочных спаек, — состояния, часто приводящего к бесплодию. Используя модели крыс и эксперименты *in vitro*, исследователи обнаружили, что HNG может уменьшать явления, связанные с эндометриальным фиброзом и повышать фертильность, предотвращая ферроптоз в клетках эндометрия, — тип клеточной гибели, связанный с железом и окислительным стрессом. Вмешательство HNG нормализовало ключевые маркеры ферроптоза, что указывает на его потенциал в качестве терапевтической стратегии при патологиях, характеризующихся эндометриальным фиброзом. Эта работа предполагает, что нацеливание на ферроптоз может предложить новый подход к управлению процессами, связанными с эндометриальным фиброзом, подчеркивая роль HNG в клеточной защите и восстановлении фертильности [13].

Исследование физиологических эффектов HN открывает новые возможности в лечении и понимании широкого спектра заболеваний, от нейродегенеративных расстройств до сердечно-сосудистых заболеваний и таких состояний, как резистентность к инсулину и нарушение роста костей. Цитопротекторные свойства этого пептида, в частности его способность защищать клетки от окислительного стресса и апоптоза, открывают новый терапевтический путь в широком спектре возрастных и метаболических заболеваний. Исследования, представленные в статье, демонстрируют способность HN подавлять апоптоз при различных состояниях, включая остеопороз, сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет и нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера и Паркинсона. Кроме того, роль HN в ускорении восстановления после внутримозгового кровоизлияния, уменьшении резистентности к инсулину при синдроме поликистозных яичников и его эффекты при лечении внутриматочных спаек указывают на его широкий терапевтический потенциал. Исследования HN и его аналогов, таких как HNG, показывают перспективность в противодействии таким состояниям, как нарушение роста костей и обеспечении

нейропротекции при нейродегенеративных заболеваниях путем влияния на ключевые сигнальные пути и усиления митохондриогенеза. Взаимодействие HN с белками, участвующими в апоптозе, такими как BAX, и его противовоспалительное и антиоксидантное действие подчеркивают его многогранную роль в клеточной защите и уменьшении последствий после перенесенных болезней. Исследования в совокупности предполагают, что ориентир на изучение митохондриальной дисфункции и апоптоза с использованием HN и его аналогов может привести к новым открытиям физиологических эффектов и молекулярных механизмов действия этого митохондриального пептида; а также созданию терапевтических стратегий для лечения различных заболеваний. Многообещающие результаты исследований *in vitro* и *in vivo* требуют дальнейшего изучения свойств и эффектов хуманина и его аналогов для более полного понимания механизмов их действия, а также для оптимизации его применения в разных областях медицины.

Список литературы

1. Katiyar R, Ghosh SK, Karikalan M, et al. An evidence of Humanin-like peptide and Humanin mediated cryosurvival of spermatozoa in buffalo bulls. *Theriogenology*. 2022;194:13-26. doi:10.1016/j.theriogenology.2022.09.013.
2. Hazafa A, Batool A, Ahmad S, et al. Humanin: A mitochondrial-derived peptide in the treatment of apoptosis-related diseases. *Life Sci*. 2021;264:118679. doi:10.1016/j.lfs.2020.118679.
3. Wijenayake S, Storey KB. The role of Humanin in natural stress tolerance: An underexplored therapeutic avenue. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2022;1866(1):130022. doi:10.1016/j.bbagen.2021.130022.
4. Morris DL, Kastner DW, Johnson S, et al. Humanin induces conformational changes in the apoptosis regulator BAX and sequesters it into fibers, preventing mitochondrial outer-membrane permeabilization. *J Biol Chem*. 2019;294(50):19055–19065. doi:10.1074/jbc.RA119.011297.
5. Thiankhw K, Chattipakorn K, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Roles of Humanin and derivatives on the pathology of

- neurodegenerative diseases and cognition. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2022;1866(4):130097. doi:10.1016/j.bbagen.2022.130097.
6. Kim KH. Intranasal delivery of mitochondrial protein Humanin rescues cell death and promotes mitochondrial function in Parkinson's disease. *Theranostics*. 2023;13(10):3330–3345. Published 2023 May 29. doi:10.7150/thno.84165.
 7. Karachaliou CE, Livaniou E. Neuroprotective Action of Humanin and Humanin Analogues: Research Findings and Perspectives. *Biology (Basel)*. 2023;12(12):1534. Published 2023 Dec 16. doi:10.3390/biology12121534.
 8. Yang Y, Gao H, Zhou H, et al. The role of mitochondria-derived peptides in cardiovascular disease: Recent updates. *Biomed Pharmacother*. 2019;117:109075. doi:10.1016/j.biopha.2019.109075
 9. Jung JE, Sun G, Bautista Garrido J, et al. The Mitochondria-Derived Peptide Humanin Improves Recovery from Intracerebral Hemorrhage: Implication of Mitochondria Transfer and Microglia Phenotype Change. *J Neurosci*. 2020;40(10):2154-2165. doi:10.1523/JNEUROSCI.2212–19.2020.
 10. Dabravolski SA, Nikiforov NG, Starodubova AV, Popkova TV, Orekhov AN. The Role of Mitochondria-Derived Peptides in Cardiovascular Diseases and Their Potential as Therapeutic Targets. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8770. Published 2021 Aug 16. doi:10.3390/ijms22168770.
 11. Wang Y, Zeng Z, Zhao S, et al. Humanin Alleviates Insulin Resistance in Polycystic Ovary Syndrome: A Human and Rat Model-Based Study. *Endocrinology*. 2021;162(8):bqab056. doi:10.1210/endocr/bqab056.
 12. Velentza L., Wickström M., Kogner P., Ohlsson C., Zaman F., Säwendahl L. Humanin Treatment Protects Against Venetoclax-Induced Bone Growth Retardation in *Ex Vivo* Cultured Rat Bones. *J Endocr Soc*. 2024;8(3):bvae009. Published 2024 Jan 25. doi:10.1210/jendso/bvae009.
 13. Zou L., Huang J., Zhang Q. et al. The Humanin analogue (HNG) alleviates intrauterine adhesions by inhibiting endometrial epithelial cells ferroptosis: a rat model-based study. *Hum Reprod*. 2023;38(12):2422-2432. doi: 10.1093/humrep/dead196,

УДК 616.517-85.262]-07.616.5-018:577.1

**Тюнина Н.В., Гайковская Л.Б., Павлова Р.Н., Шеломова Д.А.,
Бурбелло А.Т., Антонова Ж.В., Бейшебаева Ч.Р.**

*Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова*

Санкт-Петербург

Nadintv15@gmail.com, largaykovaya@yandex.ru,

RNP.apr2020@yandex.ru, darinashel@mail.ru,

at-burbello@yandex.ru, Zhanna.Antonova@szgmu.ru,

chinar17@yandex.ru

РЕДУКТИВНЫЙ СТРЕСС ПРИ ПСОРИАЗЕ И ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ

Псориаз рассматривается как мультифакторное хроническое, воспалительное, иммунозависимое рецидивирующее заболевание, сопровождающееся повышенным уровнем пролиферации клеток кожи. Выявленная при псориазе чрезмерная активация антиоксидантной системы. приводит к развитию редуکتивного стресса, являющегося одним из факторов, способствующих запуску процессов пролиферации и повышению концентрации гомоцистеина, что приводит к увеличению риска развития тромбозов и повреждению эндотелия сосудов

Ключевые слова: *псориаз, антиоксидантная система, редуکتивный стресс, гомоцистеин, эндотелий сосудов.*

**Tyunina N.V., Gaikovskaya L.B., Pavlova R.N., Shelamova D.A.,
Burbello A.T., Antonova Zh.V., Beyshebaeva Ch.R.**

North-Western State Medical University after I.I. Mechnikov

St. Petersburg

REDUCTIVE STRESS IN PSORIASIS AND ITS CONSEQUENCES

Psoriasis is considered as a multifactorial chronic, inflammatory, immune-dependent recurrent disease accompanied by an increased level of proliferation of skin cells. Excessive activation of the antioxidant system revealed in psoriasis. leads to the development of reductive stress, which is one of the factors contributing to the initiation of proliferation processes and an increase in homocysteine concentration, which leads to an increased risk of thrombosis and damage to the vascular endothelium.

Keywords: *psoriasis, antioxidant system, reductive stress, homocysteine, vascular endothelium.*

На сегодняшний день не сложилось однозначных представлений о патогенезе псориаза. И поэтому одной из трудно решаемых задач в дерматологии остается патогенетическая терапия псориаза. Запуск патологического процесса происходит под воздействием провоцирующих факторов внешней среды таких как сильный психоэмоциональный стресс, инфекции, травмы кожи и др.

При обострении псориаза в отдельных участках кожи развивается воспаление, повышается интенсивность ПОЛ и увеличивается концентрация АФК. В ответ на эти изменения происходит адаптивное повышение активности антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы и др.) и нарастает отщепление связанных с белком низкомолекулярных тиолов, и не только глутатиона, но и цистеина и гомоцистеина. Однако у больных псориазом активация АОС приобретает избыточный характер и сопровождается снижением активности прооксидантных процессов, что ведет к снижению интенсивности апоптоза и способствует повышению пролиферации [1–4]. Клинически процесс проявляется формированием псориатических бляшек, как результат избыточной пролиферации и воспалением в дерме. Причем пролиферативная готовность отмечается не только в очаге воспаления, но и в здоровых участках кожи [2], а сдвиг редокс-равновесия наблюдается и в крови [4].

Одним из важных факторов неспецифической регуляции процессов в организме является внутри и внеклеточный окислительно-восстановительный потенциал. Окислительно-восстановительный пул плазмы формируется в основном за счет альбумина и свободного цистеина — Cys/CySS, который присутствует в плазме в концентрациях намного выше, чем глутатион GSH/GSSG, а также других низкомолекулярных тиолов, например, гомоцистеина. Одновременное присутствие в плазме низкомолекулярных тиолов позволяет осуществлять тиол-дисульфидный обмен и образовывать смешанные дисульфиды с альбумином и их расщеплением в случае сдвига окислительно-восстановительного равновесия. Хотя сывороточный альбумин имеет только одну свободную тиоловую группу (Cys34),

интересно, что S-тиолирование наблюдалось не только по Cys34, но и по множественным цистеиновым остаткам в дисульфидных связях, Cys101 и Cys392, которые образуют внутримолекулярную дисульфидную связь с нативном сывороточным альбумином. Помимо этих S-тиолированных остатков цистеина, множественные остатки цистеина, такие как Cys53, 265, 316, 438 и 448, были обнаружены как восстановленные тиолы. Особенно интенсивно это процесс протекает у пациентов с гиперлипидемией, у которых выявлено повышенное содержание гомоцистеина [5, 6].

Внеклеточный окислительно-восстановительный потенциал может регулировать гомеостаз тканей за счет влияния на клеточную пролиферацию, дифференцировку, апоптоз и иммунную функцию, таким образом оказывать важное влияние на развитие патологических состояний и, поэтому может быть целью для вмешательства при выборе терапии [7].

В последние двадцать лет появилось большое количество работ о регуляторной роли редокс-потенциала и разных функциях АФК, в зависимости от их концентрации. В связи интенсивными исследованиями по изучению окислительно-восстановительных процессов в развитии ряда патологий возникло понятие «оксидантный стресс». По мере изучения механизмов инициации и развития возникающих нарушений, наряду с оксидантным, были введены термины: карбонильный, нитрозативно/нитрозирующий стрессы. В настоящее время появилось понятие «редуктивный стресс» [8].

Не только избыточная продукция АФК, но и сдвиг баланса в сторону восстановленных компонентов может иметь значительные негативные последствия для организма, в связи с чем с осторожностью обсуждается терапия, например, сердечно-сосудистых заболеваний антиоксидантами без учета их концентраций [9].

Доказано участие редокс-сдвига при болезни Альцгеймера, однако у молодых людей с риском развития этого заболевания (носителей важнейшего генетического маркера — аллели аполипопротеина апоЕ4) лимфоциты характеризовались не оксидативным, а редуктивным стрессом. Он выражался в снижении окисленного глутатиона и уровня Р-р38 (киназа,

участвующая в сигнальном каскаде, контролирующем клеточный ответ на цитокины и стресс) наряду с повышенным уровнем антиоксидантных ферментов глутамилцистеиниллигазы и глутатионпероксидазы [10].

Другая группа исследований показала наличие сдвига редокс — равновесия в сторону восстановления при онкологии в начальных стадиях ее развития — т.е. патологии, сопровождающейся повышением процессов пролиферации [11, 12].

Кожа постоянно контактирует с различными факторами окружающей среды, в том числе с кислородом и его активными формами и должна обладать высоким антиоксидантным потенциалом. Окислительно-восстановительное состояние среды регулирует концентрацию СРО и активность антиоксидантов, которое у больных псориазом смещено в сторону усиления антиоксидантной защиты и характеризуется снижением концентрации активных метаболитов кислорода. Также псориаз характеризуется дефицитом в плазме и в клеточных мембранах эпидермальных клеток полиненасыщенных жирных кислот, являющихся субстратами для развития ПОЛ и образования АФК [13]. Это создает предпосылки для формирования редуکتивного стресса при развитии псориазического процесса.

Анализ результатов показал, что у больных псориазом средней и легкой степени тяжести до лечения по сравнению с донорами наблюдается сдвиг редокс-равновесия в сторону восстановления: достоверно ($p < 0,05$) увеличена активность каталазы и соотношение КАТ/СОД, имеется тенденция — к повышению содержания общих SH-групп плазмы крови, тенденция к снижению интенсивности апоптоза. Также достоверно повышена концентрация провоспалительного интерлейкина (ИЛ-8) и противовоспалительного интерлейкина ИЛ-10.

При сравнительном анализе лабораторных показателей у пациентов с тяжелой формой псориаза было выявлено статистически значимое повышение количества циркулирующих эндотелиоцитов $14/3 \times 10^5$ WBC (7–19,5) по сравнению с группой контроля $3/3 \times 10^5$ WBC [1–5], $p < 0,001$.

Таблица 1

**Показатели антиоксидантной системы крови,
жизнеспособности лимфоцитов и интерлейкинов у лиц
контрольной группы и больных псориазом до лечения**

Обследуемые группы Лабораторный показатель	Группа контроля, Ме (C ₂₅ –C ₇₅)	Группа больных до терапии Ме (C ₂₅ –C ₇₅)
Каталаза (КАТ), у. ед.	3,27 (2,68–3,86)	5,11* (2,18–9,22)
Супероксиддисмутаза (СОД), у. ед.	1,10 (0,43–1,77)	0,79 (0,22–1,80)
Соотношение КАТ/СОД	2,97 (2,27–3,97)	6,47* (6,04–6,97)
Малоновый диальдегид (МДА), нмоль/мл	4,56 (3,62–5,50)	4,60 (3,91–7,12)
Общие HS-группы плазмы, мкмоль/дл	7,48 (6,28–8,68)	8,96* (4,45–10,32)
Количество лимфоцитов на ранних стадиях апоптоза, %	7,82 (5,23–10,64)	6,86 (2,54–12,14)
Количество лимфоцитов в стадии позднего апоптоза/некроза, %	0,88 (0,72–1,04)	0,55 (0,50–0,70)
Интерлейкин-8 (ИЛ-8), пг/мл	6,79 (5,85–8,59)	10,32* (5,38–13,7)
Интерлейкин-10 (ИЛ-10), пг/мл	0,8 (0,09–1,25)	1,07 (0,50–8,74)

Примечание: * достоверные различия при сравнении с контролем при $p < 0,05$.

Увеличение количества циркулирующих эндотелиальных клеток свидетельствует о дисфункции эндотелия и повреждении сосудистой стенки. Также у пациентов с тяжелой формой псориаза было выявлено значимое повышение концентрации гомоцистеина 13,6 мкмоль/л (11,0–18,9) по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе 8,7 мкмоль/л (7,03–9,8), $p < 0,001$ — 34% обследованных пациентов с псориазом имели гипергомоцистеинемию. Поскольку сдвиг в сторону

восстановления при развитии псориаза сопровождается отщеплением низкомолекулярных тиолов, то это объясняет обнаруженное при псориазе повышение содержания гомоцистеина. Гомоцистеин, как и другие биологические тиолы, может играть важную роль в защите клеток от активных форм кислорода и некоторых реакционноспособных промежуточных продуктов, образующихся в процессе развития воспаления, но его накопление приводит к повышению риска развития тромбозов и повреждение эндотелия сосудов, что обнаружено у больных псориазом [14].

Заключение. Выявленный при псориазе сдвиг редокс-равновесия в сторону восстановления, сопровождается повышением концентрации низкомолекулярных тиолов и активацией антиоксидантной системы, приводит к развитию редуکتивного стресса, являющегося одним из факторов, способствующих снижению интенсивности апоптоза и запуску процессов пролиферации, клинически проявляющейся в виде псориазических бляшек. Повышению концентрации одного из низкомолекулярных тиолов — гомоцистеина способствует развитию осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы — увеличению риска развития тромбозов и повреждению эндотелия сосудов.

Список литературы

1. Притуло О.А., Рычкова И.В. Современные представления о патогенезе псориаза // Таврический медико-биологический вестник. 2017. Т. 20, № 1. С. 141–153.
2. Шилов В.Н. Новые подходы к изучению патогенеза и лечения псориаза / В.Н. Шилов, В.И. Сергиенко // Бюлл. эксп. биол. и мед. 2000. Т. 129, № 4. С. 364–369.
3. Грашин Р.А. Системы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты как индикаторы активности пролиферации кератиноцитов при псориазе / Р.А. Грашин, В.Г. Антонов, А.И. Карпищенко // Клин. лаб. диагностика. 2010. № 1. С. 18–24.
4. Гайковская Л.Б., Тюнина Н.В., Павлова Р.Н. и др. Метаболическая коррекция антиоксидантного статуса крови с использованием омега-3 полиненасыщенных жирных кислот при лечении больных псориазом // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020. Т. 23, № 7. С. 52–57.

5. Fumie Nakashima Takahiro Shibata Structural and functional insights into S-thiolation of human serum albumins // *Sci Rep.* 2018 Jan 17;8(1. P. 932.
6. Fumie Nakashima Takahiro Shibata, Koji Uchida A unique mechanism for thiolation of serum albumins by disulphide molecules // *J. Biochem.* 2020. Feb V/ 1;167 (2). P. 165–171.
7. Moriarty-Craige S. E., and Dean P. Jones Extracellular thiols and thiol/disulfide redox in metabolism / S. E. Moriarty-Craige, D. P. Jones // *Annu. Rev. Nutr.* 2004; 24. P. 481–509.
8. Проскурина Е.В. Методы оценки свободнорадикального гомеостаза крови: автореферат дис. ... д-ра мед. наук. 2018. М., 34 с.
9. Brewer, A., Mustafi, S. B., Murray, T., Rajasekaran, N. S., & Benjamin, I. J. (2013). Reductive stress linked to small HSPs, G6PD, and Nrf2 pathways in heart disease // *Antioxidants and redox signaling*, 2012. Vol. 18 (9). P. 1114–1127.
10. Vina J., Lloret A., Giraldo E., Badia M.C., Alonso M.D. Antioxidant Pathways in Alzheimers Disease: Possibilities of Intervention // *Current Pharmaceutical Design* 2011. Vol. 17. P. 3861–3864.
11. Носарева О.Л. Роль окислительной модификации белков и их деградации, тиолдисульфидной системы в механизмах дисрегуляции апоптоза при опухолевой прогрессии. автореф. дис. д-ра мед. наук. Томск, 2017. 43 с.
12. Кондакова И.В. Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2005, 42 с.
13. Systems biology approaches to redox metabolism in stress and disease states / R.S. Wang, W.M. Oldham, B.A. Maron, J. Loscalzo // *Antioxidants and redox signaling*. 2018. Vol. 29, № 10. P. 953–972.
14. Гайковая Л.Б. Оценка дисфункции эндотелия у пациентов с тяжелой формой псориаза / Л.Б. Гайковая, Д.А. Шеламова // Молодежь и инновации-2022: Сборник материалов 8-й научно-практической конференции студентов, молодых ученых и специалистов, Санкт-Петербург, 10 ноября 2022 года. Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2022. С. 92–93.

УДК 577.15

**Федосова Ю.Е., Крыльский Е.Д., Разуваев Г.А., Скакун С.Д.,
Дронова Е.А., Мялик А.Н.**

*Воронежский государственный университет
Воронеж*

*kolbasinafox2002@gmail.com; evgenij.krylsky@yandex.ru;
storiesofgames@gmail.com; skakun.sonya@mail.ru;
dronova.lizaveta@yandex.ru; anna.myalik.03@mail.ru*

**АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ
2,2,4-ТРИМЕТИЛ-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-8-КАРБОНОВОЙ
КИСЛОТЫ**

Было проведено исследование активности СОД при болезни Паркинсона у крыс при воздействии карбоксигидрохинолина (кДГХ). Выявлено, что активность фермента при патологии снижалась из-за избыточного образования АФК. При введении кДГХ крысам с патологией активность СОД изменялась в направлении контрольных значений, что свидетельствует об антиоксидантных свойствах вещества.

Ключевые слова: *болезнь Паркинсона, окислительный стресс, карбоксигидрохинолин, супероксиддисмутаза, активные формы кислорода, 2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин-8-карбоновая кислота.*

**Fedosova Y.E., Krylsky E.D., Razuvaev G.A.,
Skakun S. D., Dronova E. A., Myalik A.N.**

*Voronezh State University
Voronezh*

**SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN EXPERIMENTAL
PARKINSON'S DISEASE IN RATS UNDER THE INFLUENCE
OF 2,2,4-TRIMETHYL-1,2-DIHYDROQUINOLINE-8-
CARBOXYLIC ACID**

A study of SOD activity was conducted in rats with Parkinson's disease under the influence of carboxyhydroquinoline (cDHQ). It was found that the enzyme activity in pathology decreased due to excessive formation of ROS. When cDHQ was administered to rats with

pathology, SOD activity changed towards control values, which indicates the antioxidant properties of the substance.

Keywords: *Parkinson's disease, oxidative stress, carboxyhydroquinoline, superoxide dismutase, reactive oxygen species, 2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline-8-carboxylic acid.*

Болезнь Паркинсона (БП) — это одно из самых распространённых нейродегенеративных заболеваний, для которого характерна дегенерация компактной части черной субстанции и накопление α -синуклеина в тельцах Леви [1].

Также БП характеризуется прогрессирующими двигательными симптомами с течением времени. Так, чаще всего у пациентов наблюдается ригидность мышц, тремор и брадикинезия. Другие немоторные симптомы включают боль, депрессию, беспокойство и психоз [2].

В последние годы распространённость БП среди всех случаев неврологических расстройств росла высокими темпами. Такая динамика привела к тому, что БП стала одной из ведущих причин инвалидности во всем мире [3]. На данный момент не выявлено точной причины возникновения БП, однако известен ряд факторов, которые способствуют её возникновению. Одним из них является окислительный стресс (ОС), вызванный активными формами кислорода (АФК) и другими реактивными молекулами, которые способствуют дегенерации дофаминергических нейронов. Избыточное образование АФК являющееся одной из основных причин патологии при БП, было подтверждено различными исследованиями, показывающими, что окисленные макромолекулы, включая липиды, белки и нуклеиновые кислоты, накапливаются в тканях мозга пациентов с БП [4].

Допустимый уровень АФК для поддержания гомеостаза в организме осуществляется с помощью антиоксидантной системы, частью которой является эндогенный компонент — супероксиддисмутаза (СОД) [9]. СОД — это металлофермент, который играет важную роль в защите организма от окислительного стресса и его последствий. Таким образом, СОД запускает эндогенный антиокислительный механизм нейтрализации избытка свободных радикалов, что позволяет снизить ОС при различных патологических состояниях [5].

Известно, что этоксихин обладает антиоксидантными свойствами, однако данное соединение имеет побочные эффекты. В связи с этим, интерес представляет исследование иных представителей дигидрохинолина, в частности, 2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин-8-карбоновая кислота (кДГХ).

Таким образом, целью исследования стала оценка влияния кДГХ на активность СОД при ротенон-индуцированной болезни Паркинсона.

Методы. В качестве объекта исследования использовали белых лабораторных крыс самцов Wistar возрастом 4-6 месяцев и массой 200–250 г, содержащихся на стандартном режиме вивария. БП моделировали путем подкожного введения крысам ротенона в дозе 2,5 мг/кг в виде раствора в 98% очищенном оливковом масле и 2% диметилсульфоксиде, один раз в сутки на протяжении 10 дней. В качестве контроля использовали животных, которым подкожно вводили инъекции носителя. 2-ю группу составляли крысы, которым моделировали паркинсонизм. Животным 3-й группы параллельно с ротеноном вводили внутривентриально кДГХ в дозе 50 мг/кг, а 4-я группа животных, помимо ротенона, получала кДГХ в дозе 25 мг/кг один раз в сутки. Через 24 часа после последней инъекции у крыс анализировали моторные показатели, после чего умерщвляли, забирали кровь из сердца и головной мозг для проведения исследований. Активность СОД определяли по ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия (NBT) в неэнзиматической системе феназинмета сульфата (PMS) и NADH. Среда спектрофотометрирования включала следующие компоненты: 0.1 М фосфатный буфер (pH 7.8), 0.33 мМ EDTA, 0.41 мМ NBT, 0,01 мМ PMS, 0.8 мМ NADH. Вносили исследуемый образец объемом 0,03 мл на 1 мл среды инкубации. Реакцию инициировали добавлением NADH и регистрировали прирост оптической плотности за 5 мин при длине волны 540 нм. За 1 единицу активности СОД (Е) принимали количество фермента, необходимое для 50%-го ингибирования восстановления NBT. Общий белок измеряли с помощью биуретового метода. Данные обрабатывали с использованием стандартных статистических методов, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты проведённого исследования показали, что активность СОД, представленная в Е/мл сыворотки крови крыс с БП, достоверно не изменилась по сравнению с показателями контрольной группы. Однако активность СОД в мозге, выраженная в Е/г сырой массы ткани, уменьшилась в 1,74 раза по сравнению с контрольными значениями. Предположительно, снижение активности фермента было обусловлено тем, что при БП увеличивалось количество свободных радикалов, что могло стать причиной повреждения молекул СОД. В группе особей, которым вводили кДГХ на фоне патологии в дозировке 50 мг/кг, активность фермента повышалась в сыворотке и мозге в 1,25 раза по сравнению с группой крыс с БП. В свою очередь, у животных, которые получали кДГХ в дозировке 25 мг/кг, активность фермента возрастала в сыворотке в 1,15 раза по сравнению с группой, получавшей только ротенон, а в мозге данный показатель увеличился в 1,17 раза. Опираясь на вышеупомянутые данные, можно сделать вывод, что изменения активности СОД достоверно не отличались в разных дозах друг от друга.

СОД присутствует в клетках всех аэробных организмов и катализирует реакцию восстановления супероксидного радикала до пероксида водорода и молекулярного кислорода. Пероксид водорода принимает участие в активации MAP-киназ, а также дополнительно взаимодействует с сигнальными системами через прямую реакцию с функциональными группами белков — реактивными тиолами [6].

Так, реактивные молекулы могут способствовать запуску NF-κB и MAPK сигнальных путей посредством активации фосфорилирования ИКК комплекса. В состав данного комплекса входят субъединицы ИКК α , ИКК β и регуляторная субъединица ИКК γ (NEMO), а его фосфорилирование сопровождается диссоциацией из комплекса с NF-κB и деградацией. NF-κB, высвободившийся из ИКК комплекса, транслоцируется в ядро, где запускает индукцию фактор-зависимых генов-мишеней [7]. Окислительный стресс приводит к активации ASK1 (киназа 1), основного регулятора MAPK-пути. АФК вызывает окисление Trx (тиоредоксин) и его отделение от ASK1. Trx является ASK1-связывающим белком и отвечает за его инактивацию. Кроме того,

ASK1 фосфорилирует MEK (семейство белковых киназ), которые в свою очередь фосфорилируют JNK (с-Jun N-концевая киназа) и p38 MAPK (митоген-активированные протеинкиназы). Активированные MAPK индуцируют фосфорилирование нескольких транскрипционных факторов, что приводит к запуску нескольких клеточных процессов, включая апоптоз и воспаление [8].

Кроме того, в ходе пероксидазной реакции, катализируемой СОД при избытке пероксида водорода, а также в ходе реакции Фентона, которая протекает при участии двухвалентных ионов меди, высвобождаемых из поврежденных молекул фермента, генерируется реакционноспособный гидроксильный радикал, являющийся также мессенджером синтеза цитокинов, которые отвечают за запуск апоптотических процессов в клетках [6].

Таким образом, введение кДГХ на фоне патологии способствовало нормализации активности СОД, что свидетельствует о возможном наличии у данного соединения антиокислительных свойств и протекторной активности. На основе анализа данных, которые были получены в результате экспериментов, можно заключить, что выраженного дозозависимого воздействия кДГХ на активность СОД при БП не наблюдалось.

Список литературы

1. Vázquez-Vélez G.E., Zoghbi H.Y. Parkinson's disease genetics and pathophysiology // *Annual review of neuroscience*. 2021. № 44. P. 87–108.
2. Sivanandy P. et al. Systematic review on Parkinson's disease medications, emphasizing on three recently approved drugs to control Parkinson's symptoms // *Int J Environ Res Public Health*. 2021. № 19. P. 364.
3. Ou Z. et al. Global Trends in the Incidence, Prevalence, and Years Lived With Disability of Parkinson's Disease in 204 Countries/Territories From 1990 to 2019 // *Front Public Health*. 2021. № 9. P. 776–847.
4. Dorszewska J. et al. Oxidative stress factors in Parkinson's disease // *Neural regeneration research*. 2021. № 16. P. 1383–1391.
5. Rosa A.C. et al. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses // *Molecules*. 2021. № 26. P. 18–44.

6. Милякова М.Н., Шабанов В.В. Возможный механизм и патофизиологическая значимость регуляции активности супероксиддисмутазы свободными радикалами кислорода // Биомедицинская химия. 2006. № 2. С. 130–137.

7. Бабкина И.И., Сергеева С.П., Горбачева Л.Р. Роль транскрипционного фактора nf-kb в нейровоспалении // Нейрохимия. 2021. № 2. С. 111–126.

8. Polyphenols inhibiting MAPK signalling pathway mediated oxidative stress and inflammation in depression / Behl T. et al. // Biomedicine & pharmacotherapy=Biomedecine & pharmacotherapie. 2022. № 146. P. 112.

9. Попова Т.Н., Рахманова Т.И., Попов С.С. Медицинская энзимология. Воронеж: Воронежский государственный университет, 2008. 63 с.

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ 5-Й МЕЖДУНАРОДНОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ «СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ ХИМИКО-
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ И
КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ», ПОСВЯЩЕННОЙ 155-ЛЕТИЮ
СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПРОФЕССОРА Е. С. ЛОНДОНА**

Под редакцией Л. Б. Гайковой, Н. В. Бакулиной

**Санкт-Петербург
5-6 декабря 2024 года**

Часть 1

Технический редактор: *Т.Н. Ефимова*

Подписано в печать 20.11.2024 г. Формат бумаги 60×84/16.

Уч.-изд. л. 9,4. Усл. печ. л. 14,75.

Тираж 18 экз.

Санкт-Петербург, Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова
191015, Санкт-Петербург, Кировная ул., д. 41.

Отпечатано в типографии СЗГМУ им. И. И. Мечникова
191015, Санкт-Петербург, Кировная ул., д. 41.