



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
2-й ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ»

2–3 декабря 2021



**Санкт-Петербург
2021**

Министерство здравоохранения Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Северо-Западный государственный
медицинский университет имени И. И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
2-й ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ
УЧАСТИЕМ

«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ
ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ
И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ»

Санкт-Петербург
2–3 декабря 2021 года

Под редакцией А. В. Силина, Л. Б. Гайковой

Санкт-Петербург
2021

УДК 54+57+61

ББК 24.28.5

С56

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. — 360 с.

ISBN 978-5-89588-379-2

Редакционная коллегия: д.м.н., доц., зав. кафедрой биологической и общей химии им. В.В. Соколовского *Гайкова Л.Б.*, д.х.н., проф. *Дадали В.А.*, к.п.н., доц. *Иванова И.С.*, к.х.н., доц. *Попов А.С.*, к.х.н., доц. *Чухно А.С.*, к.б.н. *Власова Ю.А.*

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.

ISBN 978-5-89588-379-2

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;
- современные достижения в клинической лабораторной диагностике;
- проблемы теории и практики химико-биологического образования в медицинском вузе.

© Издательство СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Гайковая Л.Б.

Научные направления развития кафедры биологической
и общей химии имени В.В. Соколовского 12

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

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

Оценка последствий восстановления дисульфидных
связей на расположение ароматических аминокислотных
остатков в третичной структуре эпидермального
фактора роста человека.....21

*Бибик Е.Ю., Кривоколыско Д.С., Мязина А.В., Панков А.А.,
Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г.*

Определение потенциальной противовоспалительной
активности новых производных
1,4-дигидротиопиридинов29

*Бибик Е.Ю., Кривоколыско Д.С., Мязина А.В.,
Федченко С.Н., Панков А.А., Фролов К.А., Доценко В.В.,
Кривоколыско С.Г.*

Анальгетическая активность производных 1,4-дигидро-
тиопиридинов в тесте тепловой иммерсии хвоста36

Близняк О.В., Уранова В.В.

Сравнительная оценка содержания витамина С
в плодах боярышника кроваво-красного (*Crataegus
sanguinea pall.*)43

Васильева П.А., Дмитриева И.Б., Чухно А.С.,

Нестерова Д.И., Чеботова П.А.

Изучение физико-химических характеристик дисперсий
растительного сырья на основе плодов софоры японской,
влияющих на процесс экстракции 48

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

К вопросу синтеза лекарственных препаратов.....56

Галиулин А.Р., Катаева Н.Н., Белоконова Н.А.

Исследование физико-химических свойств
противовирусного препарата циклоферона59

<i>Горбачевич Г.И., Ильяшенко С.А.</i>	
Антиоксидантная активность экстрактов листьев рейнутрии японской	65
<i>Дадали В.А., Соколова Е.А., Степанова Н.П.</i>	
Апокаротиноиды растений. Некоторые аспекты биохимического действия	70
<i>Дяченко И.В.</i>	
Синтез и прогнозируемые биологические свойства 2- амино-6-[(2-цианоэтил)селанил]-4-фенилпиридин-3,5- дикарбонитрила.....	79
<i>Кременевская М.И., Чухно А.С., Шерстнев В.В.</i>	
Синтез белково-пористой системы методом криогелеобразования на основе бычьего сывороточного альбумина	83
<i>Курскова А.О., Доценко В.В., Фролов К.А., Кривоколыско С.Г.</i>	
Синтез п-метилморфолиниевой соли 2-амино-4-(2- хлорфенил)-6-(дицианометил)-1,4-дигидропиридин-3,5- дикарбонитрила и ее аминометилирование	90
<i>Попов А.С., Иванова И.С.</i>	
Стабилизация карбанионов незамещенных пяти- и шестичленных гетероциклов за счет эффекта сольватации	96
<i>Старцева О.М., Котов И.С., Белых Д.В.</i>	
Синтез нового хлорсодержащего производного хлорофилла а.....	102
<i>Хохрякова Д.А., Катаева Н.Н., Саркисян Н.Г.</i>	
Исследование влияния зубных паст с пептидами на физико-химические свойства смешанной слюны	105

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ

<i>Власова Ю.А., Гайковая Л.Б., Крылова Л.С.</i>	
Влияние жирорастворимых витаминов на нейродегенеративные заболевания	110
<i>Власова Ю.А.</i>	
Катаболизм ганглиозидов	116

<i>Вольхина И.В., Наумова Н.Г.</i>	
Показатели обменов сиалогликоконъюгатов и коллагена в тканях тонкой кишки крыс при иммобилизации	120
<i>Глинник С.В., Ринейская О.Н., Романовский И.В.</i>	
Комбинирование аминокислотного комплекса с L-тироксином для коррекции антиоксидантного и гормонального статуса экспериментальных животных с гипотиреозом.....	125
<i>Жергеля С.Н., Глушков С.И.</i>	
Динамика концентрации восстановленного глутатиона в тканях печени, почек и эритроцитах экспериментальных животных после введения рентгеноконтрастных веществ различных групп	130
<i>Иштулин А.Ф., Короткова Н.В., Матвеева И.В., Минаев И.В., Полякова П.М.</i>	
Зависимость подвижности сперматозоидов от активности катепсинов В и L у мужчин с бесплодием.....	134
<i>Киндон В.К., Беспалов А.В., Доценко В.В.</i>	
Синтез и определение <i>in silico</i> биологической активности новых 2-иминотиазолин-тиено[2,3- <i>b</i>]пиридин гибридных молекул.....	138
<i>Лебедева Е.И., Бабенко А.С., Щастный А.Т.</i>	
Изменения уровня экспрессии мРНК гена <i>nos2</i> в печени крыс при индуцированном фиброгенезе	143
<i>Луканина С.Н., Сахаров А.В., Просенко О.И.</i>	
Изучение редокс-зависимых механизмов регуляции ионного гомеостаза при глюкокортикоид-индуцированном окислительном стрессе	151
<i>Максютова А.А.</i>	
Окисление урацилов озоном в водных растворах: кинетика и активационные параметры.....	158
<i>Мурашко Д.И.</i>	
Перспективы использования комбинации определения уровня рецепторов CXCR2, CXCR1 и гиалуроновой кислоты в крови пациентов в диагностике немелкоклеточного рака легкого.....	164

<i>Мухаммадиева Г.Ф., Валова Я.В., Зиятдинова М.М., Каримов Д.О., Кудояров Р.Э., Борисова А.И.</i>	
Ассоциация полиморфизма гена глутатион-S-трансферазы Р1 с предрасположенностью к хроническому пылевому бронхиту	172
<i>Мухамеджанов Э.К., Ерджанова С.С.</i>	
Биохимические основы патогенеза метаболического синдрома.....	175
<i>Нониашвили Е.М.</i>	
Влияние лактоферрина на развитие преимплантационных зародышей мышей в присутствии бисфенола а in vitro.....	180
<i>Перепечай А.А., Дяченко В.Д.</i>	
Биологически активные производные 1,6-нафтиридинов (обзор)	186
<i>Самохина Л.М., Антонова И.В.</i>	
Отдельные возрастные и гендерные особенности проявления обострений хронической обструктивной болезни легких, сочетанной с ишемической болезнью сердца.....	194
<i>Степочкина А.М., Бахтюков А.А., Деркач К.В., Шарова Т.С., Голованова Н.Э., Лебедев И.А., Шпаков А.О.</i>	
Разнонаправленные влияния метформина на стероидогенный эффект агонистов рецептора лютеинизирующего гормона у диабетических самцов крыс.....	201
<i>Фокина Е.А., Деркач К.В., Бондарева В.М., Шпаков А.О.</i>	
Влияние лечения метформином и интраназально вводимым инсулином на уровни лептина, инсулина и тиреоидных гормонов у крыс с диабетом 2 типа.....	207
<i>Шкутина И.В., Мироненко Н.В.</i>	
Исследование иммобилизации α -амилазы на сорбентах различной структуры с целью создания лекарственных форм.....	213

СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

<i>Арутюнян Л.А., Искусных А.Ю.</i> Болезни геномного импринтинга и их диагностика.....	217
<i>Бакурова Е.М.</i> Перспективы использования тимидинфосфорилазы в клинической лабораторной диагностике.....	220
<i>Гайковая Л.Б., Евтеева Д.А., Вохмянина Н.В.</i> Определение фолиевой кислоты в крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.....	227
<i>Гайковая Л.Б., Шеламова Д.А., Гулордава М.Д., Аликбаев Т.З., Ермаков А.И.</i> Микрочастицы клеток крови как предиктор активации системы гемостаза у больных с тяжелой формой псориаза.....	231
<i>Галькович К.Р., Соснин Д.Ю., Кривцов А.В.</i> Значение некоторых компонентов семенной плазмы в определении инфертильности мужчины.....	238
<i>Золотова Е.А., Жиленкова Ю.И., Сироткина О.В., Симакова М.А., Моисеева О.М., Вавилова Т.В.</i> Повышение уровня внеклеточных везикул тромбоцитарного и эндотелиального происхождения у пациентов с перенесенной тромбоэмболией легочной артерии	243
<i>Мальцева Ю.И., Горбенко Д.А., Шкоденко Л.А., Рубель М.С., Зарубаев В.В., Слита А.В., Колпациков Д.М.</i> Обнаружение нуклеиновых кислот на основе комбинации методов изотермической амплификации и ДНК- наномашин.....	247
<i>Тюнина Н.В., Гайковая Л.Б., Бурбелло А.Т., Павлова Р.Н., Власова Ю.А., Антонова Ж.В., Ермаков А.И.</i> Выбор методов оценки эффективности и безопасности редокс-модулирующего действия «омега-3, 35» при лечении больных псориазом.....	252

**ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ ХИМИКО-
БИОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ
В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ**

*Астратенкова И.В., Балахонов А.В., Голованова Н.Э.,
Захарова Л.Б., Кулибаба Т.Г., Парийская Е.Н., Слепых Л.А.*
Школа и вуз — преемственность обучения в медицинском
высшем учебном заведении 261

Витязева О.В., Наумова Л.А.
Система дистанционного обучения общей химии 267

*Гайковая Л.Б., Антонова Ж.В., Павлова Р.Н.,
Власова Ю.А., Голованова Н.Э., Соколова М.Н.,
Бейшебаева Ч.Р., Крылова Л.С.*
Оптимизация учебного процесса в ходе преподавания
дисциплины «Биологическая химия» студентам
лечебного, медико-профилактического и
стоматологического факультетов медицинского
университета в рамках дистанционного обучения в
условиях пандемии COVID-19 271

Ермишина Е.Ю.
Организация практических занятий по дисциплине
«Экологическая химия» для студентов педиатрического
факультета в системе дистанционного обучения
Moodle 277

Иванова И.С., Попов А.С., Гайковая Л.Б.
Особенности разработки ситуационных задач по химии
для студентов медицинских вузов 281

Кабанов А.В.
Особенности преподавания химии на курсах подготовки к
Единому Государственному Экзамену 285

Кужаева А.А., Берлинский И.В.
Современное развитие образования в научной сфере 288

Лавич Ф.Ф., Бурдашкина К.Г.
Реализация дидактических принципов содержания курса
органической химии на основе графоориентированного
подхода 290

<i>Лахвич Ф.Ф., Ринейская О.Н.</i>	
Использование элементов исследовательской технологии рационального драг-дизайна в процессе обучения студентов фармацевтических специальностей.....	296
<i>Литвинова Т.Н., Литвинова М.Г.</i>	
Обучение химии студентов медицинского вуза в условиях очно-дистанционного режима	302
<i>Лямин А.Н.</i>	
Интегральные познавательные задания в обучении студентов химии в медицинском университете.....	308
<i>Новик И.Р., Воронина И.А., Черепанов С.А.</i>	
Ранняя профилизация как первый этап подготовки кадров для медицинских вузов и факультетов естественнонаучного профиля	317
<i>Новик И.Р., Пиманова Н.А., Жадаев А.Ю., Кукаев Н.А.</i>	
Использование технологии «Перевернутый класс» в преподавании химических дисциплин на разных уровнях получения непрерывного образования.....	324
<i>Романовский И.В., Ринейская О.Н., Борисевич С.Н., Глинник С.В.</i>	
Итоги 20-летней работы кафедры биоорганической химии БГМУ	332
<i>Саркисян З.М., Векслер И.А., Некрасов М.С.</i>	
Метапредметные знания в курсе медицинской химии ...	339
<i>Серкина Е.А.</i>	
Учебные конференции как форма образовательного процесса при изучении химических дисциплин в медицинском вузе.....	341
<i>Стихова А.М., Трудникова Н.М., Фадеев Г.Н.</i>	
Самостоятельная работа студентов в условиях дистанционного обучения.....	345
<i>Шкутина И.В.</i>	
Методические аспекты и проблемы преподавания химии в медицинском вузе	349
<i>Яроватая М. А., Лазарева Е.К., Королева И.П., Юшкова Е.И.</i>	
Лекция как важнейшая форма занятий по биохимии при получении высшего медицинского образования.....	354

Уважаемые участники конференции, коллеги, друзья!

Вот и прошел год после 1-й Всероссийской научно-практической конференции «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине».

Кафедра биологической и общей химии имени В.В. Соколовского проводит 2-ю конференцию, посвященную 10-летию Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова. 12 октября 2011 года при объединении Санкт-Петербургской медицинской академии последиplomного образования и Санкт-Петербургской государственной медицинской академии имени И.И. Мечникова был образован Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова.

В 2011 году была образована кафедра биологической и общей химии при слиянии кафедры химии (заведующий д.х.н., профессор Слесарев В.И.) и кафедры биохимии с курсом биоорганической химии (заведующий кафедрой д.х.н., профессор Дадали В.А.).

Уникальность новой кафедры заключается в профессорско-преподавательском составе, так как здесь работают кандидаты биологических, химических, педагогических, медицинских наук, а также доктора химических и медицинских наук. Эта особенность позволяет в рамках конференции объединять преподавателей химии, биохимии и других дисциплин образовательных организаций высшего и дополнительного профессионального медицинского образования, врачей клинической лабораторной диагностики и других специальностей, сотрудников научно-исследовательских институтов и лабораторий, студентов, ординаторов, аспирантов и других заинтересованных лиц.

Международная научно-практическая конференция, прошедшая в 2020 году, проводилась дистанционно, но при этом получила большой отклик. В конференции участвовали 312 специалистов из различных стран: 254 участника из России (в том числе из Санкт-Петербурга — 123); 58 зарубежных авторов (Беларусь — 32, Украина — 11, Узбекистан — 9, Казахстан — 3, Кыргызстан — 1, Чехия — 1, США — 1) и был выпущен сборник научных трудов в 2 частях.

В адрес оргкомитета конференции пришли благодарственные письма: «Огромная благодарность за прекрасно организованную конференцию и выпуск Сборника. В наше непростое время каждое живое общение — НА ВЕС ЗОЛОТА» (проф. Г.Н. Фадеев, МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва); «Примите наши поздравления за организацию конференции. Это будет образцом для многих вузов в период дистанта. А то, что есть конкурс для молодых исследователей — отдельное достижение; обычно им просто выступить уже большое счастье и опыт. Спасибо». (Гавронская Ю.Ю., д.п.н., к.х.н., проф. РГПУ им. А.И. Герцена, ВМА С.М. Кирова, СПб); «Большое спасибо, интересная форма проведения конференции, интересные доклады» (Литвинова Т.Н. д.п.н., к.м.н., проф. КубГМУ, Краснодар) и другие.

Традиция проводить конференцию будет продолжаться. Поэтому очень рады, что в этом году общение будет очным, хотя и с соблюдением всех санитарно-эпидемиологических требований.

Желаю всем участникам конференции успешной работы!
Дорогие друзья, всем удачи! До новых встреч!

С уважением,
д.м.н., заведующий кафедрой
биологической и общей химии
им. В.В. Соколовского
Гайковая Л.Б.

УДК 54+57+61

*Гайковая Л.Б., д.м.н., заведующий кафедрой
биологической и общей химии им. В.В. Соколовского*
ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России
Санкт-Петербург
Larisa.Gaikovaya@szgmu.ru

НАУЧНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ КАФЕДРЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ И ОБЩЕЙ ХИМИИ ИМЕНИ В.В. СОКОЛОВСКОГО

В статье представлены научные направления работы кафедры биологической и общей химии имени В.В. Соколовского в историческом аспекте и в настоящее время.

Ключевые слова: научная деятельность, биохимия, химия, медицина

Gaikovaya L.B.

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

SCIENTIFIC AREAS OF DEVELOPMENT OF THE DEPARTMENT BIOLOGICAL AND GENERAL CHEMISTRY NAMED AFTER V.V. SOKOLOVSKY

The article presents the scientific directions of the work of the Department of Biological and General Chemistry named after V.V. Sokolovsky in the historical aspect and at the present time.

Key words: scientific activity, biochemistry, chemistry, medicine

12 октября 2021 года Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова отмечал 10-летний юбилей. СЗГМУ им. И.И. Мечникова был образован в результате слияния Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования и Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. В это же время в 2011 году была организована новая кафедра биологической и общей химии при объединении кафедры биологической химии с курсом биоорганической химии (зав. кафедрой д.х.н., профессор Владимир Абдулович Дадали) и химии (зав. кафедрой д.х.н.,

профессор Валерий Иванович Слесарев). Вновь созданную кафедру возглавил д.х.н., профессор В.А. Дадали.

В.А. Дадали — ведущий специалист в области биохимии и фармакологии микронутриентов и биологически активных добавок. Он заведовал кафедрой биохимии с курсом биоорганической химии с 1987 года сначала в Ленинградском санитарно-гигиеническом медицинском институте, с 1994 года (в связи с изменением статуса) — в Санкт-Петербургской государственной медицинской академии (СПбГМА), с 1995 года — в СПбГМА им. И.И. Мечникова.

Докторская диссертация В.А. Дадали «Механизм катализа и структурные эффекты в ряду имидазолов» (1986 г.) была посвящена синтетическим производным имидазола, которые впоследствии были экспериментально исследованы как адаптогены в антарктических экспедициях. В связи с санитарно-гигиеническим направлением развития медико-профилактического факультета СПбГМА им. И.И. Мечникова основным научным направлением кафедры было исследование детоксицирующей и модифицирующей активности глутатион-зависимых ферментов природных и синтетических веществ, а также изучение природных индукторов митохондриогенеза — природных орто-хинонов, резвератролов, стильбенов и др.

Большой интерес для кафедры представляло использование методов определения активности детоксикационных систем в клинических и санитарно-эпидемиологических исследованиях. С этой целью научными сотрудниками кафедры под руководством В.А. Дадали совместно с Центральной научно-исследовательской лабораторией (ЦНИЛом) были освоены неинвазивные методы исследования слюны, в том числе на основе нагрудных тестов. Этим методом определялась активность цитохрома P-450 и глутамат-зависимых ферментов у работающих на целлюлозно-бумажных, химических и нефтехимических предприятиях Ленинградской области. На основе этих данных были разработаны соответствующие лечебно-профилактические мероприятия, включая функциональное питание.

По результатам научных работ на кафедре под руководством д.х.н., профессора В.А. Дадали были подготовлены следующие диссертационные работы: «Влияние некоторых токсических тиосоединений на активность глутатион-S-трансферазы печени и эритроцитов крыс» (Голованова Н.Э., 1993); «Исследование

влияния производных имидазола на состояние клеточных мембран в условиях воздействия серосодержащих соединений» (Кузнецова О.А., 1996); «Влияние тиолмодифицирующих и полимерных соединений на глутатион-S-трансферазную систему эритроцитов крыс» (Смертина М.Н., 2000) и др.

С 2012 по 2013 г. кафедрой биологической и общей химии заведовал д.м.н. Валерий Геннадьевич Макаров, крупнейший специалист в области разработки и изучения растительных препаратов адаптогенного действия, автор более 500 научных работ, в том числе двух монографий.

Еще в 1989 г. при содействии заведующего кафедрой В.А. Дадали доцент В.Г. Макаров создал Межрегиональный центр «Адаптоген», который в дальнейшем был преобразован в Санкт-Петербургский институт фармации (генеральный директор д.м.н., профессор В.Г. Макаров). Научными интересами В.Г. Макарова были патогенетически направленные подходы к созданию и изучению новых комплексных препаратов природного происхождения, а также доклинические исследования лекарственных препаратов.

Под руководством В.А. Дадали и В.Г. Макарова было подготовлено диссертационное исследование на тему «Биохимические механизмы коррекции острого воспаления липидами печени трески» (Крышень К.Л., 2014).

С 2014 года руководит кафедрой биологической и общей химии СЗГМУ им. И.И. Мечникова выпускница ЛСГМИ 1985 года д.м.н., доцент Лариса Борисовна Гайковская.

Научные исследования Ларисы Борисовны Гайковской были посвящены лабораторной оценке действия омега-3 полиненасыщенных жирных кислот при различных патологических состояниях, и отражены в докторской диссертации (2011). Л.Б. Гайковская, являясь заведующей центральной клинко-диагностической лабораторией СЗГМУ им. И.И. Мечникова, направила научную деятельность кафедры на изучение клеток (жизнеспособности/апоптоза, окислительного стресса, митохондриального мембранного потенциала) современными лабораторными технологиями при воздействии различных биологически активных веществ при различных патологических состояниях.

Однако научные традиции кафедры биохимии сохранились. Решением Ученого совета СЗГМУ им. И.И. Мечникова от

27.12.2019 года кафедре биологической и общей химии было присвоено имя Виктора Владимировича Соколовского в связи со 110-летним юбилеем кафедры и достижениями д.м.н. профессора В.В. Соколовского по изучению биохимических механизмов действия факторов окружающей среды.

Виктор Владимирович Соколовский (1925–2018) — д.м.н., профессор, был заведующим кафедрой биохимии с курсом биорганической химии ЛСГМИ с 1969 по 1986 гг. Основным научным интересом В.В. Соколовского было изучение биохимических механизмов действия токсических веществ, космофизических воздействий, лазерного облучения, электромагнитных полей, вибрации, шума, продуктов микробиологического синтеза на биологические системы. За годы работы на кафедре В.В. Соколовским было опубликовано более 220 научных работ, 3 монографии, 3 сборника научных трудов, под его руководством были выполнены 16 кандидатских и 1 докторская диссертация. Изучение тиолдисульфидной системы (ТДС) как ключевого звена антиоксидантной защиты в биохимическом механизме неспецифической резистентности и адаптации организма к экстремальным факторам окружающей среды представлены в ряде диссертаций научных сотрудников и преподавателей кафедр ЛСГМИ медико-профилактического и лечебного профиля, которые работали и/или работают в СЗГМУ им. И.И. Мечникова в настоящее время. Ответную реакцию организма на действие двуокиси азота исследовала Т.М. Соколовская (1974); продуктов микробиологического синтеза — Н.Э. Джангулова (1984), А.Г. Шлейкин (1986); вибрации — Г.А. Баскович, В.Г. Макаров (1986); шума — Л.Л. Гончарова, Л.П. Родионова (1987); низкоинтенсивного лазерного излучения — А.С. Иванов, Л.А. Покровская (1994). Изменения ТДС также выявлены в клинике стеновых вазо-инсулярных пароксизмов (Ключева Е.Г., 1979), в остром периоде черепно-мозговой травмы (Александров М.В., 1979), при развитии поздних токсикозов беременности (Костюшов Е.В., 1979), послеабортном сепсисе (Костючек Д.Ф., Рыжова Р.К., 1984).

В.В. Соколовский совместно с группой геофизиков НИИ Арктики и Антарктики и ИЗМИРАНа — филиала института земного магнетизма и радиоволн РАН стал автором научного открытия «Явление внешне обусловленных регулярных флукту-

аций скорости окислительно-восстановительных реакций» (2004).

В настоящее время ученики В.В. Соколовского работают в различных научно-исследовательских учреждениях России и мира. На кафедре ученица В.В.Соколовского к.м.н., доцент Римма Николаевна Павлова продолжает исследования по изучению тиолдисульфидной системы при различных патологических состояниях. В ближайшее время готовится к защите диссертационная работа «Значимость редокс-модулирующего действия полиненасыщенных жирных кислот и лабораторные маркеры оценки его эффективности у пациентов с псориазом», подготовленная ассистентом Н.В. Тюниной под руководством доцента Р.Н. Павловой и заведующего кафедрой д.м.н. Л.Б. Гайковой.

Огромное значение придается диагностике митохондриальной дисфункции. На кафедре проводились исследования по изучению функции митохондрий под влиянием различных энерготропных препаратов, как например, диссертационная работа Л.Г. Мишуры «Активность комплексов дыхательной цепи митохондрий в лимфоцитах как маркер митохондриальной дисфункции, оценки прогноза при остром инфаркте миокарда и чувствительности к энерготропным препаратам». Влияние убидекаренона на активность ферментных комплексов дыхательной цепи митохондрий и оценку ассоциации полиморфизма гена NQO1 у пациентов с хронической сердечной недостаточностью изучала О.А. Лобанова.

У заочных аспирантов кафедры появилась возможность проводить научные исследования с использованием современных лабораторных технологий. Темы научно-исследовательских работ аспирантов кафедры посвящены значимости биохимических маркеров для диагностики и прогноза тяжести различных заболеваний. Так, диагностическую и прогностическую значимость цито-биохимических маркеров инфекционных осложнений у больных в послеоперационном периоде оценивала ассистент Н.Л. Афанасьева; К.Н. Замятина определяла биохимические предикторы геморрагических осложнений у пациентов, принимающих антикоагулянты и ингибиторы протонной помпы.

Методом проточной цитометрии и в глицериновом тесте ассистент Т.Т. Асатрян изучала функции мембран эритроцитов в своей диссертационной работе «Оптимизация лабораторной диагностики наследственного сфероцитоза». Этим же методом

определялись микровезикулы тромбоцитарного генеза у пациентов с псориазом (Шеламова Д.А.)

Молекулярно-генетические исследования по оценке генов фолатного цикла и определение фолиевой кислоты, витамина В12, гомоцистеина у пациентов с COVID-19 запланировано на 2021-2024 гг. в научно-исследовательской работе Д.А. Евтеевой.

Аспиранты и преподаватели кафедры проводят исследования в области нейрофармакологии на клеточных культурах в Центральной научно-исследовательской лаборатории и в центральной клинико-диагностической лаборатории. Заведующий учебной лабораторией Л.С. Крылова под руководством научного сотрудника ЦНИЛ к.б.н. Ю.А. Власовой (доцент кафедры) проводит исследования по изучению влияния жирорастворимых витаминов и полиненасыщенных жирных кислот на функциональное состояние клеток нейрональной линии РС-12 и клеток крови пациентов с умеренными когнитивными расстройствами.

Участие сотрудников кафедры в комплексных научно-практических работах по актуальным темам. В 2020 году Национальной ассоциацией по тромбозу и гемостазу, научно-практическим журналом «Тромбоз, гемостаз и реология» при поддержке РООИ «Здоровье человека» (г. Москва) был проведен конкурс научно-практических работ «Коагулопатия при COVID-19: система гемостаза, иммунитет и воспаление». Первое место присуждено коллективу авторов: О.В. Сироткина, А.И. Ермаков, Л.Б. Гайковская, Д.А. Кудлай, Т.В. Вавилова — из различных организаций: ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России; ФГБУ «ПИЯФ им Б.П. Константинова НИЦ "Курчатовский институт"»; ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России; ФГБУ «ГНЦ "Институт иммунологии" ФМБА» с работой «Микрочастицы клеток крови у больных COVID-19 как маркер активации системы гемостаза». Среди авторов заведующий кафедрой биологической и общей химии им. В.В. Соколовского Л.Б. Гайковская, которая заведует Центральной клинико-диагностической лабораторией, и А.И. Ермаков, врач клинической лабораторной диагностики ЦКДЛ.

Кафедра биологической и общей химии им. В.В. Соколовского занимается подготовкой кадрового резерва для кафедры и СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Создана современная учебно-лабораторная база для выполнения научных студенческих работ по химии и по биохимии. Заседания студенческого научного

общества сопровождаются демонстрацией презентаций профессорско-преподавательского состава, аспирантов и студентов.

Для студентов, занимающихся на кафедре в студенческом научном обществе, имеются возможности для ознакомления с современными научными методами исследований (на базе ЦНИЛ и ЦКДЛ): ВЭЖХ, клеточные и молекулярно-генетические исследования, ИФА, проточная цитометрия, электрохемилюминесцентный метод и др.

Современная лабораторная база ЦНИЛ и ЦКДЛ позволяет проводить научные исследования студентов на высоком уровне. Работы, выполненные студентами СНО под руководством преподавателей кафедры, участвуют в международных конкурсах исследовательских работ в области медицинских наук. В 2019 г. под руководством доцента Юлии Александровны Власовой работа «Взаимосвязь между уровнем альфа-амилазы и психоэмоциональным состоянием студентов» студентки 4-го курса медико-профилактического факультета Полины Алексеевны Угловской была удостоена первой премии (г. Нижний Новгород).

Под руководством куратора СНО ассистента Т.Т. Асатрян активно ведется студенческая научно-исследовательская работа. В 2020 г. СНО кафедры биологической и общей химии им. В.В. Соколовского получило диплом II степени.

Ежегодно кафедра организует участие студентов нашего Университета в городских межвузовских олимпиадах по химии. В 2020 г. команда СЗГМУ им. И.И. Мечникова, подготовленная преподавателями кафедры доцентом А.С. Поповым и доцентом А.С. Чухно, заняла второе место в «Региональной предметной студенческой олимпиаде высших учебных заведений, расположенных на территории Санкт-Петербурга, по химии». Впервые победителем этой олимпиады по химии (первое место) стал студент I курса лечебного факультета Валентин Владимирович Бидоленко. В 2021 году студент I курса медико-профилактического факультета Данила Сергеевич Гузенков занял второе место на «Олимпиаде по химии среди студентов университетов, академий и других высших учебных заведений медицинского, фармацевтического и ветеринарного профилей при поддержке Правительства Санкт-Петербурга и Комитета по науке и высшей школе».

Традиция подготовки студентов медицинского вуза к участию в предметных олимпиадах по химии появилась в годы,

когда кафедрой химии руководил с 1979 по 2011 г. Валерий Иванович Слесарев, профессор (1993), доктор химических наук (1992), заслуженный работник высшей школы РФ (2008). Его научными интересами были «Ионизация и прототропия барбитуровой кислоты и ее производных» (1970) и «Прототропные превращения полиоксипиримидинов» (1992). В.И. Слесарев подготовил 6 кандидатов химических наук, опубликовал 176 научных работ, из них более 70 — в зарубежных журналах. Его учебник для студентов медицинских вузов «Химия: Основы химии живого» признан лауреатом конкурса Министерства общего и профессионального образования РФ «Учебник нового поколения» (1996).

Традиции научных разработок по химии продолжают преподавателями кафедры. Основными направлениями являются изучение структуры и активности полифенолов, каротиноидов, хинонов и их аналогов (к.х.н., доцент Е.А. Соколова), биологической активности новых энергоемких веществ и их производных (к.х.н., ассистент Н.П. Степанова), коллоидных свойств дисперсий, содержащих биологически активные вещества (к.х.н., доцент А.С. Чухно), проблемы обогащения воды микро-нутриентами и эффективности их воздействия на организм (к.х.н., доцент А.С. Попов).

Кроме того, появилось новое научное направление на кафедре — совершенствование методов преподавания химических дисциплин (к.п.н. доцент И.С. Иванова) и биологической химии (к.б.н. доцент Ж.В. Антонова, ст. преподаватель Ч.Р. Бейшебаева) в медицинском вузе.

Результатом работы кафедры по разным научным направлениям является организация научно-практических конференций. Так, 3 декабря 2020 г. была проведена первая всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине» (секретарь конференции доцент И.С. Иванова). В конференции участвовало 312 специалистов из различных стран: 254 участника из России (из них 123 из Санкт-Петербурга); 58 зарубежных авторов (Беларусь — 32, Украина — 11, Узбекистан — 9, Казахстан — 3, Кыргызстан — 1, Чехия — 1, США — 1). С докладами выступали сотрудники образовательных организаций высшего и дополнительного профессионального медицинского образования, врачи

клинической лабораторной диагностики и других специальностей, сотрудники научно-исследовательских институтов и лабораторий и аспиранты. Особенностью конференции являлась ее многопрофильность. Было организовано четыре секции: 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; современные достижения в клинической и лабораторной диагностике; проблемы теории и практики химико-биологического образования в медицинском вузе.

Учитывая сложности в организации НИР и для повышения их уровня, кафедра открыта для совместной деятельности. Исследования проходят в содружестве с научными подразделениями и кафедрами медико-профилактического и клинического направления СГЗМУ им. И.И. Мечникова, а также с другими научными медицинскими центрами (НМИЦ им. В.А. Алмазова и др.) и лечебно-профилактическими учреждениями Санкт-Петербурга и России.

Таким образом, научная направленность кафедры — это подготовка высококвалифицированных преподавателей, комплексные научно-исследовательские работы с врачами лечебного и гигиенического профиля, разработка и внедрение в практику инновационных методов диагностики, проведение научно-практических конференций и участие в международных форумах и конгрессах, публикационная активность, подготовка кадрового резерва, начиная со студенчества — олимпиады, СНО, научно-исследовательские работы и др.

Профессорско-преподавательский коллектив кафедры биологической и общей химии им. В.В. Соколовского, опираясь на научные традиции отдельных кафедр химии и биологической химии, а также используя опыт и знания известных специалистов-ученых в области химии и биохимии, с оптимизмом смотрит в будущее, вдохновляемый идеями и активностью молодых научных (аспирантов и студентов).

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

УДК 577.359

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

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹;
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»²

Минск, Беларусь
akunevichna@gmail.com, vvkhustalev@mail.ru,
tanissia.lir@gmail.com

ОЦЕНКА ПОСЛЕДСТВИЙ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ДИСУЛЬФИДНЫХ СВЯЗЕЙ НА РАСПОЛОЖЕНИЕ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ В ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЕ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА

Описаны возникающие в структуре нативного эпидермального фактора роста NH- π -взаимодействия между ароматическими аминокислотными остатками и пептидными связями. Показано, что внесение замены D46G увеличивает число данных взаимодействий, а восстановление дисульфидных связей приводит к пространственному разобщению ароматических аминокислотных остатков и NH-групп главной цепи.

Ключевые слова: эпидермальный фактор роста, дисульфидные связи, спектрофлуориметрия.

Akunevich A.A.¹, Khrustalev V.V.¹, Khrustaleva T.A.²

Belarusian State Medical University¹;
Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus²
Minsk, Belarus

EVALUATION OF THE CONSEQUENCES OF DISULFIDE BONDS REDUCTION ON THE POSITIONS OF AROMATIC AMINO ACID RESIDUES IN THE HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR TERTIARY STRUCTURE

Local NH- π interactions arising in the native epidermal growth factor structure between aromatic amino acid residues and peptide bonds are described. It was shown that D46G substitution increases the number of these interactions, and the reduction of disulfide bonds leads to spatial separation of aromatic amino acid residues and NH-groups of the main chain.

Key words: epidermal growth factor, disulfide bonds, spectrofluorometry.

Введение. Эпидермальный фактор роста (ЭФР) является олигопептидом семейства факторов роста, стимулирующих рост и дифференцировку эпителиальных клеток. Он состоит из 53 аминокислотных остатков и включает консенсусную последовательность (ЭФР-подобный домен) из шести консервативных остатков цистеина, формирующих три внутримолекулярные дисульфидные связи C₁–C₃, C₂–C₄ и C₅–C₆: CX₇CX₄₋₅CX₁₀₋₁₃CXCX₈GXRC, где С — аминокислотные остатки цистеина, X — другие аминокислотные остатки [1]. ЭФР-подобный домен формирует главный двухцепочечный β-лист, за которым следует петля к короткому С-концевому двухцепочечному β-листу [2]. Данный мотив является консервативным: он также характерен для других факторов роста (в том числе для амфирегулина, эпирегулина, эпигена, трансформирующего фактора роста альфа, бетацеллюлина). Он определяет пространственную структуру данных факторов роста и их возможность взаимодействия с рецепторами семейства ErbB [3]. ЭФР-подобные домены также обнаруживаются во внеклеточной части мембраносвязанных и некоторых секретруемых белков и часто встречаются в виде тандемных повторов, образующих соленоидные домены [2]. Цель настоящей работы — описать последствия восстановления дисульфидных связей ЭФР-подобного домена для расположения ароматических аминокислотных остатков в третичной структуре ЭФР и его варианта с С-концевой аминокислотной заменой D46G.

Материалы и методы. Для исследования были использованы два синтетических пептида, полученные методом твёрдофазного синтеза (Elabscience, Китай): человеческий ЭФР с нативной последовательностью

(NSDSECPLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVG YIGERCQ YRDLKWWELR) и человеческий ЭФР с аминокислотной заменой D46G (соответствующее положение в аминокислотной последовательности выделено полужирным шрифтом). Образцы (200 мкг) пептидов растворяли в 2 мл 0,1М PBS (рН=7,4) в течение 24 часов при температуре 5 °С. Насыщенные растворы были центрифугированы при 16 000 g в течение 15 минут, для дальнейших исследований был отобран супернатант, который затем разбавили в 10 раз путём добавления 0,1М PBS (рН=7,4). Восстановление дисульфидных связей осуществлялось посредством добавления 4 мкл 0,5М раствора трис(2-карбоксиэтил)фосфина (ТСЕР) (Thermo Scientific, США) на 1 мл растворов нативного ЭФР и ЭФР D46G с последующим выдерживанием в течение 10 минут. Спектры возбуждения флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре Solar

СМ2203 при следующих условиях: $\lambda_{Em}=330$ нм и $\lambda_{Em}=357$ нм, $\lambda_{Ex}=200-300$ нм, шаг 1 нм, ширина щелей 5 нм. Каждый спектр был записан трижды в одних и тех же условиях. Спектроскопические исследования были проведены для растворов обоих пептидов до и после восстановления дисульфидных связей.

Результаты и их обсуждение. Спектры возбуждения флуоресценции отражают изменение интенсивности флуоресценции в зависимости от длины волны возбуждающего света. При этом в качестве длины волны испускания выбирают, как правило, ту, на которую приходится максимум флуоресценции исследуемого белка. При этом спектры возбуждения флуоресценции и спектры поглощения идентичны для соединений, которые подчиняются правилу Каши и закону Вавилова [4]. Для белков поглощение при $\lambda_{Ex}=220$ нм характерно для карбонильных групп пептидных связей, тогда как поглощение при $\lambda_{Ex}=280$ нм обусловлено ароматическими аминокислотными остатками (в первую очередь, остатками триптофана и тирозина) [5]. Однако на интенсивность пика возбуждения флуоресценции при $\lambda_{Ex}=220$ нм могут влиять расположенные вблизи пептидных связей флуоресцирующие аминокислотные остатки: между π -кольцом ароматического аминокислотного остатка и соседними амидными группами основной цепи могут возникать локальные NH- π -взаимодействия, что приводит к частичному переносу электронов между π -облаком и NH-группами основной цепи [6]. В результате энергия, поглощённая пептидными связями при $\lambda_{Ex}=220$ нм, переносится на ароматические аминокислотные остатки, которые флуоресцируют при $\lambda_{Ex}=280$ нм [7]. Исходя из этого, увеличение интенсивности пика возбуждения флуоресценции, соответствующего поглощению пептидными связями, свидетельствует о наличии данного переноса как результата близкого расположения ароматических аминокислотных остатков к NH-группам основной цепи.

На рисунках 1 и 2 представлены относительные спектры возбуждения флуоресценции нативного ЭФР и ЭФР D46G до и после восстановления дисульфидных связей, полученные при длине волны испускания $\lambda_{Em}=330$ нм и $\lambda_{Em}=357$ нм. Ранее нами было показано, что именно на данные длины волн приходятся два максимума флуоресценции обоих пептидов [8].

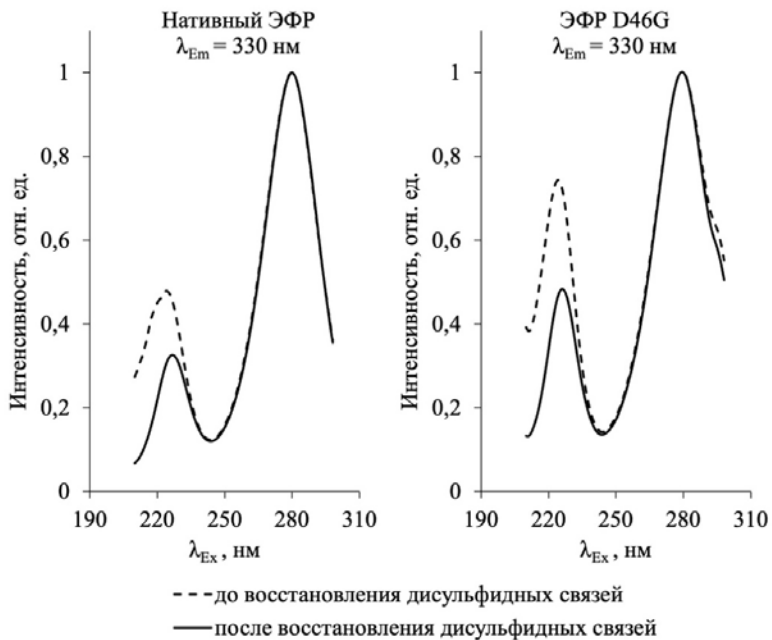


Рис. 1. Относительные спектры возбуждения флуоресценции нативного ЭФР и ЭФР D46G при $\lambda_{Em}=330$ нм до и после восстановления дисульфидных связей

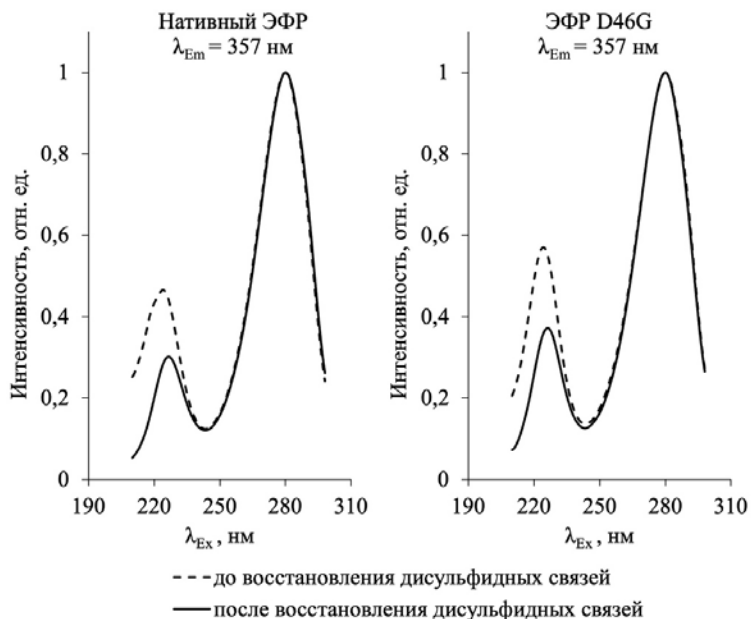


Рис. 2. Относительные спектры возбуждения флуоресценции нативного ЭФР и ЭФР D46G при $\lambda_{Em}=357$ нм до и после восстановления дисульфидных связей

Общая закономерность характерна для всех полученных спектров: после восстановления дисульфидных связей разница между максимумами возбуждения флуоресценции при 220 нм и 280 нм увеличивается. Это может быть следствием того, что в результате восстановления дисульфидных связей некоторые ароматические аминокислотные остатки отдаляются от основной цепи и энергия, поглощённая пептидными связями, в меньшей степени передаётся π -системам. В табл. 1 приведены ароматические аминокислотные остатки нативного ЭФР и их расположение относительно дисульфидных связей и NH-групп пептидных связей в структурах с PDB ID 1IVO и 1JL9.

Таблица 1. Расположение ароматических аминокислотных остатков нативного ЭФР относительно дисульфидных связей и NH-групп пептидных связей (PDB ID 1IVO, 1JL9)

Остаток	Дисульфидная связь		Пептидная связь	
	Положение	Расстояние (Å)	Положение	Расстояние (Å)
Tyr13	Cys6–Cys20	3,8	Tyr29–Ala30	4,5
	Cys14–Cys31	4,4	Ala30–Cys31	5,2
Tyr22	Cys6–Cys20	5,0	Asp27–Lys28	4,3
			Tyr22–Ile23	4,2
Tyr29	Cys6–Cys20	3,6	Glu5–Cys6	5,1
			Met21–Tyr22	4,8
Tyr37	Cys33–Cys42	4,0	Val34–Val35	5,7
			Tyr44–Arg45	3,7
Tyr44	—	—	Tyr44–Arg45	4,4
Trp49	—	—	Val35–Gly36	3,1
			Gly36–Tyr37	4,0
			Tyr37–Ile38	5,3
Trp50	—	—	Asp46–Leu47	5,1

Каждый из остатков Tyr13, Tyr22, Tyr29 и Tyr37 контактирует как с пептидными, так и с дисульфидными связями (таблица 1). С-концевые флюорофоры (Tyr44, Trp49, Trp50) не контактируют с дисульфидными связями, однако в структуре ассиметричного димера PDB ID 1JL9 они контактируют с пептидными группами в пределах 5,3 Å. Один из данных контактов формируется за счёт взаимодействия С-концевых участков каждой мономерной формы в структуре димера: аминокислотный остаток Tyr44 одной молекулы контактирует с NH-группой пептидной связи Tyr44–Arg45 другой молекулы. Наибольшее количество NH-групп расположено вблизи аминокислотного остатка Trp49: данный флюорофор окружён одновременно тремя пептидными связями.

Внесение аминокислотной замены D46G изменяет соотношение между максимумами возбуждения флуоресценции в сторону увеличения пика при $\lambda_{\text{ex}}=220$ нм относительно пика при $\lambda_{\text{ex}}=280$ нм. Это свидетельствует о более эффективной передаче на ароматические остатки поглощённой пептидными связями энергии в сравнении с нативным ЭФР. Так как аминокислотная замена была внесена на С-концевом участке пептида, это даёт основание полагать, что замена D46G привела к структурной перестройке межмолекулярного β -листа. В результате данной перестройки С-концевые флюорофоры (Tyr44, Trp49, Trp50), вероятно, приблизились к NH-группам пептидных связей соседней полипептидной цепи, что проявилось в форме относительно увеличения пика возбуждения флуоресценции при длине волны около 220 нм за счёт эффективного NH- π -взаимодействия. Также нельзя не отметить тот факт, что для ЭФР D46G энергия от пептидных связей особенно хорошо передаётся тем остаткам триптофана, которые испускают в большей степени при 330 нм (рисунок 1). Вероятно, что NH- π -взаимодействия возникают с остатком Trp49, доступность которого растворителю в составе димера должна быть ниже, чем таковая для остатка Trp50.

Три остатка тирозина расположены в непосредственной близости от дисульфидной связи Cys6–Cys20. По всей вероятности, эффект от восстановления именно этой связи вносит наибольший вклад в изменение спектра возбуждения флуоресценции. После восстановления дисульфидной связи появляется возможность образования SH- π -взаимодействия вместо ранее существовавшего NH- π -взаимодействия. Тем не менее, некоторые из последних обнаруживаются и после восстановления дисульфидных связей, о чём свидетельствует сохранение пика на спектре возбуждения около 220 нм (рисунки 1, 2).

Заключение. Восстановление дисульфидных связей в структуре нативного ЭФР приводит к отдалению некоторых ароматических аминокислотных остатков (Tyr13, Tyr22, Tyr29 и Tyr37) от NH-групп пептидных связей. Данные аминокислотные остатки расположены в пределах 5,0 Å от дисульфидных связей и контактируют с NH-группами основной цепи в пределах 5,7 Å. С-концевая аминокислотная замена D46G увеличивает число NH- π -взаимодействий в структуре ЭФР, что может быть следствием реорганизации межмолекулярного β -листа и пространственного сближения С-концевых флюорофоров (Tyr44, Trp49, Trp50) с NH-группами пептидных связей. В результате сохранения данных взаимодействий восстановление дисульфидных связей в структуре ЭФР D46G приводит к менее выраженному относительно нативно-

го ЭФР снижению пика интенсивности около 220 нм на его спектре возбуждения. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что восстановление дисульфидных связей приводит к изменению конформации N-концевой части ЭФР, обеспечивающей связывание с III доменом рецептора.

Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ № Б20М-025 от 04.05.2020.

Список литературы

1. Carpenter G., Cohen S. Epidermal growth factor // Annual Review of Biochemistry. 1979. Vol. 48. P. 193–216.

2. Wouters M.A., Rigoutsos I., Chu C.K., Feng L.L., Sparrow D.B., Dunwoodie S.L. Evolution of distinct EGF domains with specific functions // Protein Science. 2005. Vol. 14(4). P. 1091–103.

3. Wieduwilt M.J., Moasser M.M. The epidermal growth factor receptor family: biology driving targeted therapeutics // Cellular and Molecular Life Sciences. 2008. Vol. 65(10). P. 1566–1584.

4. Lakowicz J. Principles of fluorescence spectroscopy. New York: Springer, 2006. 954 p.

5. Liyanage M.R., Bakshi K., Volkin D.B., Middaugh C.R. Ultraviolet Absorption Spectroscopy of Peptides // Methods in Molecular Biology. 2014. Vol. 1088. P. 225–236.

6. Sohn W.Y., Brenner V., Gloaguen E., Mons M. Local NH- π interactions involving aromatic residues of proteins: influence of backbone conformation and $\pi\pi^*$ excitation on the π H-bond strength, as revealed from studies of isolated model peptides // Physical Chemistry Chemical Physics. 2016. Vol. 18(43). P. 29969–29978.

7. Saraiva M.A. Interpretation of α -synuclein UV absorption spectra in the peptide bond and the aromatic regions // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2020. Vol. 212(112022). P. 1–12.

8. Khrustalev V.V., Khrustaleva T.A., Poboinev V.V., Stojarov A.N., Kordyukova L.V., Akunevich A.A. Spectra of tryptophan fluorescence are the result of co-existence of certain most abundant stabilized excited state and certain most abundant destabilized excited state // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2021. Vol. 257(119784). P. 1–13.

УДК 547.823: 547.825: 615.036.8

**Бибик Е.Ю.¹, Кривоколыско Д.С.¹, Мязина А.В.¹, Панков А.А.²,
Фролов К.А.^{1,2}, Доценко В.В.^{2,3}, Кривоколыско С.Г.^{1,2}**

¹Луганский государственный медицинский университет
имени Святителя Луки, Луганск, ЛНР

²Луганский государственный университет
имени Владимира Даля, Луганск, ЛНР

³Кубанский государственный университет, Краснодар

*helen_bibik@mail.ru; ksg-group-lugansk@mail.ru;
anna.krasnodon2009@gmail.com; app.post@rambler.ru;
ka.frolov@inbox.ru; victor_dotsenko@bigmir.net; ksg-group-
lugansk@mail.ru*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4- ДИГИДРОТИОПИРИДИНОВ

Поиск новых, высокоэффективных и безопасных лекарственных средств с противовоспалительной активностью является одной из наиболее актуальных проблем, как в фармакологии, так и в медицинской науке в целом. Выявлено, что отдельные новые производные 1,4-дигидропиридинон проявляют высокую степень противовоспалительной активности и перспективны для дальнейших клинических исследований.

Ключевые слова: воспаление, отек, антиэкссудативное действие, анестезины, производные 1,4-дигидропиридинон, противовоспалительная активность.

***Bibik E.Yu.¹, Krivokolysko D.S.¹, Miazina A.V.¹, Pankov A.A.²,
Frolov K.A.^{1,2}, Dotsenko V.V.^{2,3}, Krivokolysko S.G.^{1,2}***

¹Luhansk State Medical University named after St. Luke, Lugansk, LPR

²Luhansk State University named after Vladimir Dahl, Lugansk, LPR

³Kuban State University, Krasnodar

DETERMINING THE POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY NEW DERIVATIVES OF 1,4-DIHYDROPYRIDINES

The search for new, highly effective and safe medicines with anti-inflammatory activity is one of the most urgent problems both in pharmacology and in medical science in general. It was revealed that some new derivatives of 1,4-dihydropyridines exhibit a high degree of anti-inflammatory activity and are promising for further preclinical studies.

Key words: inflammation, edema, antiexudative effect, anesthetic, derivatives of 1,4-dihydrothiopyridines, anti-inflammatory activity.

Исходя из данных мировой статистики, ежедневно в мире нестероидные противовоспалительные средства принимает более 30 млн человек, причем лишь 10 млн пациентов по назначению врача, а остальные — в качестве безрецептурных препаратов [1, 2]. Практикующему врачу не всегда удается достичь максимальной степени антиэкссудативного действия и избежать появления нежелательных эффектов после курса фармакотерапии [3, 4]. Среди часто применяемых лекарственных средств нестероидного происхождения максимально выраженной противовоспалительной активностью обладают индометацин и диклофенак натрия. Однако вызываемая данными препаратами НПВС-индуцированная гастропатия, а также нефро- и гепатотоксичность в ряде случаев ограничивают длительное их применение, согласно данным работ [5–7].

Установлено, что перспективным классом гетероциклических соединений являются соединения цианотиоацетамида. В ранее проведенных исследованиях нами синтезированы 170 новых производных ди-, тетрагидропиридинов и цианотиоацетамида, содержащих 2-фурильный заместитель в 4-м положении, которые были подвергнуты виртуальному биоскринингу на основе программного обеспечения Swiss Target Prediction, разработанного в Swiss Institute of Bioinformatics [8].

По результатам предварительных исследований на основе биоскрининга отобраны семь образцов 1,4-дигидропиридинов с шифрами *mar-014*, *mar-033*, *mar-035*, *mar-036*, *mar-037*, *mar-040*, *mar-075* как наиболее перспективных, с учетом предполагаемых биологических мишеней фармакокоррекции воспалительного процесса в доклинических исследованиях.

По данным виртуального биоскрининга установлено, что потенциальными биологическими мишенями для представленных образцов являются аденозиновые рецепторы, циклооксигеназа-2, арахидонат-5-липоксигеназа, фосфолипаза A2, каннабиоидные и гистаминовые H3-рецепторы. Также в экспериментальных исследованиях, проведенных ранее на моделях различных фармакологических тестов, выявлена максимально выраженная анальгетическая активность четырех образцов [9, 10].

В связи с этим актуальным является изучение антиэкссудативной активности вновь синтезированных производных 1,4-дигидропиридинов. По результатам исследований пероральной токсичности *in vivo* установлено, что эти соединения относятся к малотоксичным.

Цель исследований — определение противовоспалительной активности новых препаратов — производных 1,4-

дигидротиопиридинов в классическом тесте формалинового отека лапы на белых крысах.

Животные распределялись на интактную и контрольную («формалиновый отек») группы, четыре группы сравнения (диклофенак натрия, индометацин, мелоксикам и метамизол натрия) и семь опытных групп, по количеству исследуемых производных 1,4-дигидротиопиридина. Оценка противовоспалительной активности вновь синтезированных соединений осуществлялась на модели острого «формалинового отека», который моделировали субплантарным введением в правую заднюю конечность 0,1 мл 2% раствора формалина [11]. Исследуемые вещества вводили внутривентрикулярно, в дозе 5 мг/кг за 1,5 часа до индукции отека.

Животные контрольной группы в эквивалентном количестве получали 0,9% раствор NaCl. В качестве препаратов сравнения использованы диклофенак и метамизол натрия, индометацин, мелоксикам натрия внутривентрикулярно, в дозах 10 мг/кг, 10 мг/кг, 10 мг/кг и 7 мг/кг, соответственно. Противовоспалительный эффект оценивался онкометрически, через 24 и 48 часов после индукции воспаления, по изменению размеров конечности. Основным исходом являются регистрация и количественная оценка онкометрических изменений конечностей.

Статистическая обработка полученных данных производилась по известным формулам и методам математической статистики, характеризующим количественную изменчивость. При обработке данных определялись среднее арифметическое обхвата конечности a ; дисперсия σ^2 ; среднеквадратическое отклонение σ и коэффициент вариации V .

Данные исследования одобрены комиссией по биоэтике ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки», Министерства здравоохранения ЛНР (Луганск, кв.50-летия Оборона Луганска, 1Г), протокол №5 от 10.12.2020 г.

Установлено, что у животных интактной группы размеры правой и левой передних конечностей практически не отличались. Субплантарное введение формалина животным контрольной группы привело к формированию выраженного отека. Так, например, обхват правой лапы через 24 часа после введения раствора формалина был больше обхвата левой лапы на 144%. Через 48 часов после индукции воспаления обхват левой конечности крыс контрольной группы превышал аналогичные значения правой на 136%. Это сопровождалось ярко выраженным отеком, покраснением, болезненностью и дисфункцией.

Препараты, используемые в группах сравнения, также показали определённую противовоспалительную активность. Исходя из полученных данных, наименее эффективным в этом отношении был индометацин, который через сутки после индукции воспаления привел к увеличению обхвата правой конечности на 123%. Обращает внимание при этом следующий факт: на 48-часовой отметке после моделирования «формалинового отека» у крыс группы сравнения, однократно получавших индометацин, разность в обхвате увеличивается, составляя уже 25%. Это свидетельствует о снижении его противовоспалительной активности на поздних сроках наблюдения.

Метамизол натрия, вводимый с профилактической целью крысам группы сравнения, показал умеренную противовоспалительную активность. Так, через 24 часа после индукции воспаления, установлено увеличение обхвата правой конечности на 121%, в сравнении с левой. При этом через 48 часов признаки отека значительно уменьшаются, а разность в обхвате лапок крыс этой группы составляет 10,5%.

Вдентичную противовоспалительную активность проявляют диклофенак натрия и мелоксикам, как на раннем, так и на более позднем сроке эксперимента. Разность в обхвате конечностей составляет через 24 часа — 18,1% и 17,6%, а через 48 часов после их однократного введения — 14,7% и 13,6%.

1,4-дигидротиопиридины с лабораторными шифрами *mar-036* и *mar-035*, введенные внутривенно в дозе 5 мг/кг массы за 1,5 часа до инъекции формалина под подошвенный апоневроз правой ступни животным соответствующих опытных групп, способствовали уменьшению отека инъецированной конечности в сравнении с крысами контрольной группы на 23,6-25,8%. Иными словами, эти образцы производных частично гидрированных пиридинов проявляют схожую с диклофенаком натрия и мелоксикамом противовоспалительную активность на протяжении 24 часов. Однако их активность снижается на поздних сроках.

Несколько более выраженными противовоспалительными свойствами обладает 1,4-дигидротиопиридин с шифром *mar-075*. Разность в обхвате дистальных отделов конечностей крыс этой группы на 24-часовой отметке эксперимента составляет 13,8%, а на 48-часовой отметке — 4,2%. Это на 9,4% меньше показателя, зарегистрированного в группе сравнения с мелоксикамом.

Наиболее показательными по способности предотвращения развития отека в классическом экспериментальном тесте являются образцы с лабораторными шифрами *mar-040*, *mar-014*, *mar-037* и

mar-033. При этом боль при надавливании корнцангом на поверхность инъекционной лапки у крыс этих опытных групп отсутствует.

Так, 1,4-дигидропиридины с лабораторными шифрами **mar-014** и **mar-033**, введенные внутриастрально в дозе 5 мг/кг веса лабораторного животного за 1,5 часа до субплантарного введения формалина, проявили антиэкссудативные свойства, уменьшая разность в обхвате конечностей крыс соответствующих опытных групп до 6,7-7% через 24 часа после моделирования воспаления в эксперименте. К 48 часу наблюдения эта разность уменьшается до 4,2-5,6%. Если сравнивать эти значения с зарегистрированными в группах сравнения видно, что синтезированные образцы в 2,7 раза эффективнее диклофенака натрия и мелоксикама по противовоспалительной активности в течение первых суток наблюдений.

Животные опытной группы, получавшие с профилактической целью 1,4-дигидропиридин, содержащий в структуре фрагмент анестезина (лабораторный шифр **mar-037**), за 1,5 часа до введения раствора формалина, характеризовались практически отсутствующими признаками отека на правой конечности. Через 24 часа после индукции воспаления в этой опытной группе разность в обхвате конечностей составила около процента. При сравнении полученных данных с показателями, зарегистрированными в референтных группах, выявлено, что это производное 1,4-дигидропиридина эффективнее по противовоспалительной активности, в сравнении с другими используемыми препаратами в 17-23 раза.

Наиболее эффективным в наших исследованиях является образец с шифром **mar-040**. Его однократное предварительное введение через желудочный зонд предотвратило появление формалинового отека, а разница в обхвате конечностей составила 0,7%. Сравнивая результаты с данными, зарегистрированными нами у лабораторных животных четырёх референтных групп видно, что 1,4-дигидропиридин с шифром **mar-040** превосходит по противовоспалительной активности индаметацин в 33 раза, диклофенак натрия в 26 раз, мелоксикам в 25 раз и анальгин в 30 раз.

На протяжении 3 суток после эксперимента в динамике параллельно наблюдалась поведенческая активность у животных всех экспериментальных групп. Выявлено, что по поведенческой активности крысы всех опытных групп визуально не отличались от крыс контрольной и референтной групп. В процессе исследований нежелательные явления не зафиксированы.

Выводы. В процессе скрининговых исследований, проведенные *in vivo* для 1,4-дигидропиридинов, установлено наличие макси-

мально выраженной противовоспалительной активности в дозе 5 мг/кг у соединений:

1. **Mar-040** (ethyl 4-([5-cyano-6-([2-(diphenylamino)-2-oxoethyl]thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridin-3-yl]carbonyl)amino)benzoate), которое превосходит индометацин в 33 раза, диклофенак натрия в 26 раз, мелоксикам в 25 раз и анальгин в 30 раз.

2. **Mar-037** (ethyl 4-([3-cyano-5-([4-(ethoxycarbonyl)phenyl]amino) carbonyl)-4-(2-furyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-2-yl]thio}acetyl)amino] benzoate) превосходящее по противовоспалительной активности препараты-референты в 17-23 раза в динамике наблюдения.

3. **Mar-014** (ethyl 4-([5-cyano-6-([2-[(3,5-dichlorophenyl)amino]-2-oxoethyl]thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridin-3-yl]carbonyl)amino) и **mar-033** (ethyl 2-([3-cyano-5-([4-(ethoxycarbonyl)phenyl]amino) carbonyl)-4-(2-furyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-2-yl]thio}acetyl)amino]-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxylate) в 2,7 раза эффективнее препаратов сравнения.

4. Установлено, что исследуемые образцы (**mar-035** и **mar-036**) по показателям противовоспалительной активности аналогичны препаратам сравнения мелоксикам, диклофенак и метамизол натрия.

5. В отношении темпоральной динамики воздействия выявлено, что препараты сравнения мелоксикам, диклофенак и метамизол натрия характеризуются относительно замедленным противовоспалительным действием. Препарат сравнения индометацин действует только в начальный период времени. Исследуемые частично гидрированные пиридины с шифрами **mar-040**, **mar-037**, **mar-033** и **mar-014** отличаются хорошей динамикой воздействия в исследуемый промежуток времени.

6. Образец с лабораторным шифром **mar-075** по аналогичен препаратам сравнения по противовоспалительной активности в первые 24 часа, однако в последующие 24 часа его действие интенсивнее, чем у препаратов сравнения.

Список литературы

1. Дядык А.И., Куглер Т.Е. Побочные эффекты нестероидных противовоспалительных препаратов // Consilium Medicum. 2017; 19(12): 94-99. DOI: 10.26442/2075-1753_19.12.94-99

2. Костина И.Н., Огнев М.Ю. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) разной химической структу-

ры для лечения послеоперационной боли: рандомизированное проспективное клиническое исследование. Проблемы стоматологии. 2017; 13(2): 45-48. DOI: 10.18481/2077-7566-2017-13-2-45-48.

3. Алексеева Л.И., Коваленко П.С. Мелоксикам в ревматологической практике: история применения в терапии боли // Современная ревматология. 2016; 10(2): 50-55. DOI: 10.14412/1996-7012-2016-2-50-55.

4. Вознесенский А.Г. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств. 2010. 110 с.

5. Larsen I.M., Drewes A.M., Olesen A. The effect of a combination of diclofenac and methadone applied as gel in a human experimental pain model — a randomized, placebo-controlled trial. // Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2018; 12(2): 188-192. DOI: 10.1111/bcpt.12993

6. Schmidt M., Sorensen H.T., Pedersen L. Diclofenac use and cardiovascular risks: series of nationwide cohort studies. BMJ. 2018; 4: 362-372. DOI: 10.1136/bmj.k3426

7. Stevens J.P., Wall M.J., Novack L. The Critical Care Crisis of Opioid Overdoses in the United States // Ann. American Thoracic Society. 2017; 14(12): 1803-1809. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201701-022OC

8. Gfeller D., Michielin O., Zoite V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules // Bioinformatics. 2013; 29(23): 3073-3079. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt540

9. Кривоколыско Д.С., Самокиш А.А., Вендиктова Ю.С., Шипилова Н.В., Иванец Н.В. Использование новых производных 1,4-дигидротиопиридинов в формалиновом тесте при оценке соматической боли // Мат-лы XXIV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2021. С. 748–749.

10. Bibik I.V., Bibik E.Yu., Dotsenko V.V., Frolov K.A., Krivokolysko S.G., Aksenov N.A., Aksenova I.V., Shcherbakov S.V., Ovcharov S.N. Synthesis and Analgesic Activity of New Heterocyclic Cyanothioacetamide Derivatives // Russian Journal of General Chemistry. 2021; 91(2): 154-166. DOI: 10.1134/S107036322102002X.

11. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. 941 с.

УДК 547.823: 547.825: 615.038

*Бибик Е.Ю.¹, Кривоколыско Д.С.¹, Мязина А.В.¹,
Федченко С.Н.¹, Панков А.А.², Фролов К.А.^{1,2},
Доценко В.В.^{2,3}, Кривоколыско С.Г.^{1,2}*

¹ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет
имени Святителя Луки», Луганск, ЛНР

²ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет
им. Владимира Даля», Луганск, ЛНР

³ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет»,
Краснодар

*Anna.krasnodon2009@gmail.com; app.post@rambler.ru;
victor_dotsenko@bigmir.net*

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИГИДРОТИОПИРИДИНОВ В ТЕСТЕ ТЕПЛОЙ ИММЕРСИИ ХВОСТА

Поиск высокоэффективных и безопасных лекарственных средств с противовоспалительной активностью является одной из наиболее актуальных проблем, как в экспериментальной фармакологии, так и в медицинской науке в целом. Нами синтезированы новые производные 1,4-дигидротиопиридинов как средства с потенциально выраженной анальгетической активностью, рассмотренной на примере теста тепловой иммерсии хвоста.

Ключевые слова: анальгетическая активность, дигидротиопиридины, тепловая иммерсия.

*Bibik E.Yu.¹, Krivokolysko D.S.¹, Myazina A.V.¹,
Fedchenko S.N.¹, Pankov A.A.², Frolov K.A.^{1,2},
Dotsenko V.V.^{2,3}, Krivokolysko S.G.^{1,2}*

¹SI LPR "Lugansk State Medical University
named St. Luke", Lugansk, LPR

²SEI VO LPR "Lugansk State University
named after Vladimir Dahl", Lugansk, LPR

³FSBEI HPE "Kuban State University", Krasnodar

ANALGESIC ACTIVITY OF 1,4-DIHYDROTHIOPYRIDINE DERIVATIVES IN THE TAIL HEAT IMMERSION TEST

The search for highly effective and safe drugs with anti-inflammatory activity is one of the most pressing problems, both in experimental pharmacology and in medical science in general. We have synthesized new derivatives of 1,4-dihydrothiopyridines as agents with

potentially pronounced analgesic activity, examined using the example of the tail heat immersion test.

Key words: analgesic activity, dihydrothiopyridines, thermal immersion.

Актуальность. В современном мире проблема устранения болевого синдрома как неприятного сенсорного и эмоционального переживания, связанного с истинным или потенциальным повреждением тканей, характеризуется существенной актуальностью [1–3]. Болевые ощущения отражаются на различных аспектах деятельности человека, а также общества в целом. Боль является симптомом большинства острых и хронических заболеваний, создаёт в современном обществе ряд проблем медицинского, социально-этического и экономического характера [4, 5].

Под влиянием боли перестраивается работа всех систем организма. При болевых рефлексах могут наблюдаться изменения мышечного тонуса, учащение сердечной деятельности и дыхания, сужение сосудов, повышение артериального давления, уменьшение мочеотделения и секреции пищеварительных соков, увеличение потоотделения, торможение моторики кишечника, повышение содержания сахара в крови и интенсивности распада гликогена, сужение зрачков и другие проявления [6, 7].

Несмотря на значительное количество стероидных и нестероидных противовоспалительных средств, применяемых в клинической практике, практикующему врачу не всегда удается достичь максимальной степени анальгетического действия и избежать появления нежелательных эффектов вследствие курса фармакотерапии [8, 9].

Вызываемая препаратами НПВС-индуцированная гастропатия, а также нефро- и гепатотоксичность в ряде случаев ограничивают длительность их применение [7, 10].

Поэтому актуальность поиска высокоэффективных и безопасных лекарственных средств для купирования болевого синдрома крайне велика. В связи с этим своевременным и актуальным следует считать изучение анальгетической активности вновь синтезированных производных 1,4-дигидротиопиридина.

Цель работы: исследование анальгетической активности синтезированных образцов новых производных 1,4-дигидротиопиридинов в тесте тепловой иммерсии хвоста белых крыс.

Материалы и методы. Содержание лабораторных животных происходило в условиях вивария со стандартным пищевым

рационом, по десять особей в клетке, в соответствии правилам работы с лабораторными животными.

После проведения карантинных мероприятий крысы были распределены на интактную, контрольную (животные, которым вводили 2 мл дистиллированной воды внутривенно за 1,5 часа до моделирования теста тепловой иммерсии хвоста), группу сравнения (животные, получающие в качестве фармакотерапии препарат метамизол натрия) и 7 экспериментальных групп (крысы которых в качестве фармакотерапии через желудочный зонд получали исследуемые образцы вновь синтезированных соединений в дозе 5 мг/кг) по числу исследуемых оригинальных производных цианотиоацетамида.

Нами отобраны на основании виртуального биоскрининга семь образцов 1,4-дигидротииопиридинов являющиеся наиболее перспективными для фармакокоррекции болевого синдрома. Структура и химическое строение образцов с лабораторными шифрами **mar-014, mar-033, mar-035, mar-036, mar-037, mar-040, mar-075** представлены на рис. 1.

Основными потенциальными биологическими мишенями для всех этих образцов по данным виртуального биоскрининга являются аденозиновые рецепторы, циклооксигеназа-2, арахидонат-5-липоксигеназа, фосфолипаза A2, каннабиоидные и гистаминовые H3 рецепторы.

Среди общепринятых методов оценки термической боли нами была избрана методика тепловой иммерсии хвоста, основанная на спинальном флексорном рефлексе в ответ на погружение хвоста в горячую воду. Болевое раздражение моделировали при погружении хвоста в сосуд с водой, нагретой до 50–54 °С, измеряя при этом величину латентного периода реакции. Анальгетическая активность оценивалась по удлинению времени реакции отдергивания хвоста.

Статистический анализ. Статистическая обработка полученных данных производилась на основе [11–13] и по известным формулам и методам математической статистики, характеризующим количественную изменчивость. При обработке экспериментальных данных определялись:

- среднее арифметическое время отдергивания хвоста;
- дисперсия значений вокруг среднего арифметического;
- среднеквадратическое отклонение;
- коэффициент вариации.

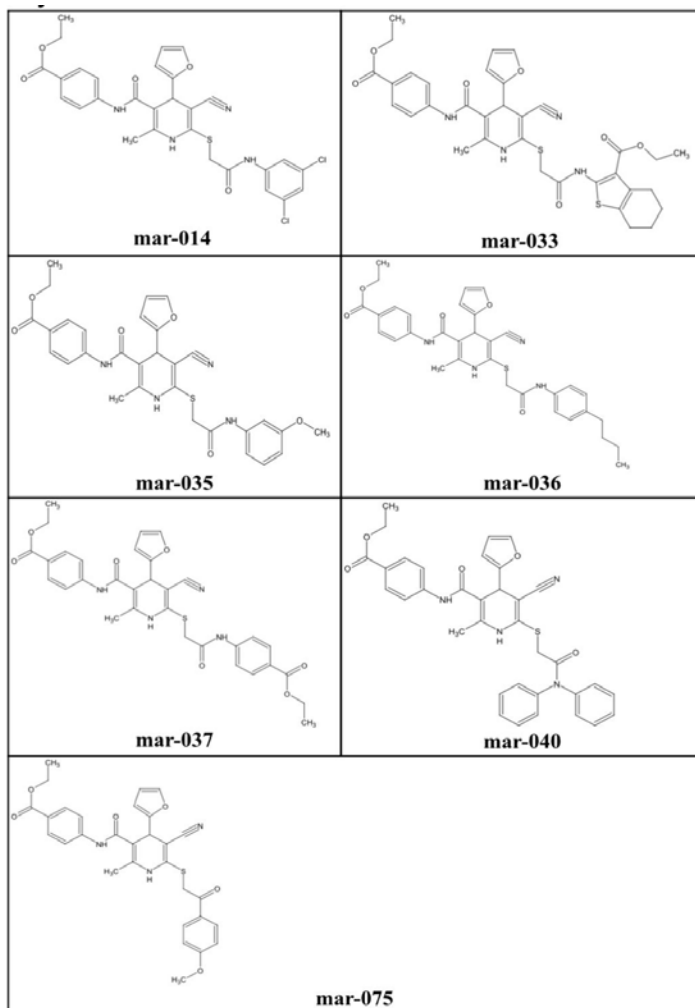


Рис. 1. Химические формулы исследуемых 1,4-дигидропиридинов, содержащих анестезиновый фрагмент

После расчета дисперсии достоверность отличий рассчитывали по $T(W)$ -критерию Уилкоксона. Однородность полученных экспериментальных данных также оценивалась коэффициентом вариации V . Если коэффициент вариации менее 10%, то изменчивость ряда данных принято считать незначительной.

Результаты. По результатам проведенного эксперимента установлено, что средние численные значения времени отдергивания хвоста из сосуда с горячей водой у крыс контрольной группы без фармакокоррекции, составляют 11,1 секунд. Предварительное введение метамизола натрия крысам референтной группы увеличивает его до 16,7 секунд.

Результаты времени отдергивания хвоста, зарегистрированные у животных опытных групп в условиях проводимого эксперимента по изучению болеутоляющей активности 1,4-дигидротиопиридинов, свидетельствуют о том, что все образцы вновь синтезированных производных 1,4-дигидропиридинов проявляют анальгетическую активность, которая превышает таковую у препарата референта. Как видно из данных, приведенных в таблице, соединение с шифром **mar-036** увеличивает значение времени отдергивания хвоста на 68,47% в сравнении с таковым у животных контрольной группы.

Показатель времени отдергивания хвоста из сосуда с горячей водой у лабораторных крыс, получавших с профилактической целью производные 1,4-дигидротиопиридинов с шифрами **mar-033** и **mar-075** составляет в среднем по группам 22,6 и 24,3 с, соответственно, что на 103,63% и 118,92% больше значения, зафиксированного в контрольной группе.

Кроме того, из приведенных в таблице данных видно, что практически идентичной по результатам этого фармакологического теста анальгетической активностью обладают соединения с лабораторными шифрами **mar-040** и **mar-037**, которые более чем в два раза увеличивают время отдергивания хвоста при тепловой его иммерсии (а именно в 2,45 и в 2,46 раза), если сравнивать с показателями в группе без предварительной фармакокоррекции. Сопоставляя полученные экспериментальные данные с таковыми в группе сранения, то следует отметить, что образцы **mar-040** и **mar-037** эффективнее метамизола натрия в 1,64 раза.

Производное 1,4-дигидротиопиридина с шифром **mar-035** в спектре своей фармакологической активности также имеет выраженные анальгетические свойства, повышая значение времени отдергивания хвоста крыс в 2,53 раза при сравнении с контролем.

Максимально выраженными с высокой степенью достоверности болеутоляющими свойствами в тесте тепловой иммерсии хвоста обладает исследуемое вновь синтезированное производное 1,4-дигидропиридина с шифром **mar-014**. Ему удастся увеличить показатель времени отдергивания хвоста в сравнении с таковым у крыс контрольной группы в 3,5 раза (до 38,9 с). Иными словами, его обезболивающая активность превышает таковую у метамизола натрия в 2,33 раза.

Выводы. Таким образом, скрининговые исследования, проведенные на белых беспородных крысах в тесте тепловой иммерсии хвоста для семи новых серосодержащих 1,4-дигидропиридинов, показали наличие максимально выраженной анальгетической активности в дозе 5 мг/кг у образца с шифром:

– **mar-014** (ethyl 4-([5-cyano-6-({2-[(3,5-dichlorophenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridin-3-yl]carbonyl}amino) (в 2,33 раза эффективнее анальгина на поздних сроках наблюдения).

Высокую анальгетическую активность, превышающую эффект от применения препарата-референта (анальгина), проявили образцы с шифрами:

– **mar-035** (ethyl 4-([5-cyano-4-(2-furyl)-6-({2-[(3-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridin-3-yl]carbonyl}amino)benzoate);

– **mar-037** (ethyl 4-([3-cyano-5-({[4-(ethoxycarbonyl) phenyl]amino} carbonyl)-4-(2-furyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-2-yl]thio}acetyl)amino)benzoate);

– **mar-040** (ethyl 4-([5-cyano-6-({2-(diphenylamino)-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridin-3-yl]carbonyl}amino)benzoate).

Список литературы

1. Ellrich J., Bromm B., Hopf H.C. Pain-evoked blink reflex // *Muscle. Nerve*. 2016. №3(20). P. 265–270.
2. Haanpää M., Cruccu G., Nurmikko T.J. et al. Capsaicin 8% patch versus oral pregabalin in patients with peripheral neuropathic pain // *European magazine Pain*. 2016. № 20 (2). P. 316–328.
3. Birklein F., Riedl B., Claus D., Neundorfer B. Pattern of autonomic dysfunction in time course of complex regional pain syndrome // *Scientific Clinical Autonomic Research*. 2017. № 8 (2). P.79-85.

4. Geertzen J.H., de Bruijn-Kofman AT, de Bruijn HP et al. Stressful life events and psychological dysfunction in Complex Regional Pain Syndrome Type I // Scientific Clinical Autonomic Research. 2016. № 14(2). P. 143–147.
5. Brandsborg B. Pain following hysterectomy: epidemiological and clinical aspect // Danish Medical Journal. 2018. № 59(1). P. 43-74.
6. Yildiz E., Feliz M., Yuksel V., Becker E. The Relationship between pain, impairment and disability in the patients with chronic low back pain // Arch. Physical Medicine and Rehabilitation. 2016. № 9 (77). P. 962.
7. Nozadze I, Tsiklauri N, Gurtskaia G. et al. NSAIDs attenuate hyperalgesia induced by TRP channel activation // Journal Data in Brie. 2016. № 13(6). P. 668–673.
8. Алексеева Л. И., Коваленко П. С. Мелоксикам в ревматологической практике: история применения в терапии боли // Современная ревматология. 2016. № 10 (2). С. 50–55.
9. Вознесенский А.Г. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств: монография. Волгоград, 2010. 110 с.
10. Stevens J.P., Wall M.J., Novack L. et al. The Critical Care Crisis of Opioid Overdoses in the United States // Ann. Amer. Thoracic Society. 2017. Vol. 14, № 12. P. 1803–1809.
11. Наркевич А.Н., Виноградов К.А. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях. Социальные аспекты здоровья населения. 2019. Т.65, №6. С.10, DOI: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10
12. Агаянц И.М. Азы статистики в мире химии: Обработка экспериментальных данных. Санкт-Петербург: НОТ, 2015. С. 618.
13. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине. М.: ГЭОТАР-Мед, 2002. С. 144.

Близняк О.В.¹, Уранова В.В.²

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный
медицинский университет», Астрахань
olhabliznyak@yandex.ru¹, ufibi_cool@list.ru²

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ВИТАМИНА С В ПЛОДАХ БОЯРЫШНИКА КРОВАВО-КРАСНОГО (CRATAEGUS SANGUINEA PALL.)

В работе представлена сравнительная оценка содержания витамина С в плодах боярышника кроваво-красного, заготовленного на территории Астраханской области и Краснодарского края, с аптечным препаратом (АО «Красногорсклексредства», Россия, Московская обл., г. Красногорск).

Ключевые слова: лекарственное растительное сырьё, витамин С, эффект, боярышник кроваво-красный.

Bliznyak O.V.¹, Uranova V.V.²

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Astrakhan State Medical University", Astrakhan

COMPARATIVE ASSESSMENT OF VITAMIN C CONTENT IN BLOOD-RED HAWTHORN (CRATAEGUS SANGUINEA PALL.) FRUITS

This work presents a comparative assessment of vitamin C content in the fruits of hawthorn blood-red, harvested in the Astrakhan region and Krasnodar Territory with a pharmacy preparation (JSC "Krasnogorsklexmedstva", Russia, Moscow region, Krasnogorsk).

Key words: medicinal plant material, vitamin C, effect, blood-red hawthorn.

Одной из основных задач развития фармацевтической промышленности Российской Федерации является разработка новых методик производства синтетических препаратов и активное внедрение растительного сырья в медицинскую практику. В настоящее время внимание многих учёных приковано к изучению органического состава различных растительных лекарственных препаратов, поскольку они обладают низкой токсичностью при достаточно высокой эффективности и по сравнению с синтетическими аналогами являются более доступными для населения. Относительная дешевизна растительных препаратов значительно повышает их спрос на фармацевтическом рынке и способствует активному развитию отечественного производства фармацевтических препаратов. При этом

важно отметить, что лекарственное растительное сырьё (ЛРС) оказывает наибольший терапевтический эффект в случае использования его в комплексной терапии лечения заболеваний различной этиологии. Наряду с синтетическими препаратами ЛРС оказывает мягкий эффект, способствующий пролонгированному терапевтическому действию [6]. Важно отметить, что фитотерапия положительно зарекомендовала себя в медицинской практике, благодаря большей биодоступности растительного сырья, случаи передозировки и непереносимости лекарственных препаратов уменьшились. В то же время максимальное накопление активных веществ в гепатоцитах позволяет максимально реализовывать терапевтические эффекты данных препаратов. Именно поэтому исследования в области химического состава различных видов ЛРС являются актуальными в фармацевтике [9]. Детальное изучение качественного и количественного состава ЛРС позволяет полнее рассмотреть фармакологические действия, оказываемые на организм человека [4].

Данное исследование было направлено на определение содержания витамина С в плодах одного из видов ЛРС, произрастающего на территории Астраханской области и Краснодарского края в сравнении с аптечным препаратом. Цель данного исследования заключалась в сравнении качества сырья и определении максимального содержания витамина С.

Витамин С (аскорбиновая кислота) является ферментом оксигеназ, участвуя в регуляции окислительно-восстановительных процессов, протекающих в организме человека. Более того, участие в пигментном обмене и активация протромбина способствуют нормализации проницаемости капилляров сердечно-сосудистой системы. Аскорбиновая кислота обладает десенсибилизирующим действием и способствует повышению жизненного тонуса организма и повышает сопротивляемость к экстремальным воздействиям на организм и стрессовым ситуациям [5].

В исследовании использовалось ЛРС боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.), поскольку данное сырьё обладает исключительным химическим составом, включающим в себя важнейшие классы органических соединений, оказывающих на организм человека положительный терапевтический эффект. Химический состав боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.) представлен комплексом таких соединений, как: тритерпеновые гликозиды; каротиноиды; витамины С, К, Е; флавоноиды (витексин, кверцетин, гиперин); жирные масла, органические кислоты (урсоловая, лимонная, олеаноловая, хлорогеновая, кратегусовая, кофейная); дубильные вещества, пектины, флавоновые гликозиды;

различные микроэлементы). Данное растение оказывает благотворный эффект при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Действуя на калиевый насос сердечной мышцы, боярышник укрепляет сердце и регулирует ритм сердечных сокращений. Благодаря расслабляющему действию на гладкую мускулатуру он снижает артериальное давление. Кроме того, он расширяет сосуды и уменьшает сопротивление стенок капилляров [7].

Боярышник кроваво-красный назначается в качестве комплексной терапии при таких заболеваниях, как: пароксизмальная тахикардия, экстрасистолия, доброкачественная коронарная недостаточность и легкое нарушение сна [5].

Для проведения данного исследования в качестве ЛРС были выбраны плоды боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.), заготовленного на территории Астраханской области и Краснодарского края, заготовка которых проводилась в октябре-ноябре 2020 г. согласно календарю сбора. Заготавливали преимущественно созревшие ягоды, срывая их отдельными плодами или кистями. Сушку проводили при 70°C в сушильном шкафу [8]. В полученном сырье были определены показатели влажности сырья (W , %) (ОФС 1.5.3.0007.15), содержание общей золы (X_1) (ОФС 1.2.2.2. 0013.15) и золы нерастворимой в хлористоводородной кислоте (X_2) (ОФС 1.5.3.0005.13) [1], а также содержание витамина С (X_3) (ОФС 1.2.3.0017.15) (таблица 1) [2].

В качестве объекта сравнения использовали сырьё плодов аптечного препарата боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.) (АО «Красногорсклексредства», Россия, Московская обл., г. Красногорск). Определение всех показателей проводили параллельно с контрольным опытом в пяти повторениях (табл. 1). Результаты проведенных исследований отражены в таблице 2.

В ходе проведенных исследований нами было выявлено, что показатели влажности сырья (W , %), содержание общей золы (X_1) и золы нерастворимой в хлористоводородной кислоте (X_2) соответствуют ФС 2.5.00.61.18 «Боярышника плоды» [3]. Данные показатели свидетельствуют о высоком качестве как заготовленного сырья, так и аптечного препарата. Количественное содержание витамина С в растительном сырье и в аптечном препарате сходно, что свидетельствует о правильном заготовлении ЛРС, культивируемого в Астраханской области и Краснодарском крае.

Таблица 1. Объекты и методы исследования

Название растения	<i>Crataegys sanguinea</i> Pall.
Метод определения W , % и формула для расчета [1]	Гравиметрический $W = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m}$, где m — масса до высушивания, г; m_1 — масса после высушивания, г
Метод определения X_1 , % и формула для расчета [1]	Гравиметрический $X_1 = \frac{m_1 \cdot 100}{m_2}$, где m_1 — масса золы, г; m_2 — масса ЛРС, г.
Метод определения X_2 , % и формула для расчета [1]	Гравиметрический $X_2 = \frac{(m_1 - m) \cdot 100}{m_2}$, где m_1 — масса золы, г; m — масса золы фильтра, г; m_2 — масса ЛРС, г.
Метод определения X_3 , % и формула для расчета [3]	Титриметрический (Йодатометрия) (Титрант — калия йодат, Индикатор — крахмал) $X_3 = \frac{(V - V_1) \cdot 0,000528 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 5 \cdot (100 - W)}$, где 0,000528 — количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 М раствора калия йодата, г; V — объем 0,001 М раствора калия йодата, пошедшего на титрование, мл; V_1 — объем 0,001 М раствора калия йодата, пошедшего на титрование в контрольном опыте, мл; a — навеска сырья, г; W — влажность сырья, %.

Более того, наличие большого количества витамина С в данном ЛРС позволяет использовать его не только для лечения патологических заболеваний сердечно-сосудистой системы, но и применять для профилактики многих сезонных заболеваний [7]. В целом исследования, направленные на изучение содержания химических компонентов в ЛРС, представляющем интерес для практической медицины, являются перспективной тенденцией развития науки.

Таблица 2. Результаты определения основных показателей качества ЛРС

Название растения	Объект анализа	W, %	X ₁ , %	X ₂ , %	Витамин С, мг на 100 г
Crataegus sanguinea Pall.	Плоды, выращенные на территории Астраханской области	6,02± 0,11	2,65± 0,10	0,57± 0,11	30,55± 0,11
	Плоды, выращенные на территории Краснодарского края	6,38± 0,11	2,58± 0,10	0,61± 0,11	31,03± 0,09
	Аптечный препарат	6,53± 0,11	2,32± 0,11	0,53± 0,10	29,91± 0,09

Список литературы

1. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. 1. Москва, 2018. 1814 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. 2. Москва, 2018. 3262 с.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. 4. Москва, 2018. 7019 с.
4. Гридчина А.В. Перспективы развития интенсивного садоводства: Тез. докл. / всероссийск. науч. конф. СПб., 2016. 244 с.
5. Гридчина А.В., Григорьева Л.В. Сравнительная оценка содержания витамина с в плодах растений боярышника различных сортов в связи с формой крон // Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной памяти ученого-садовода, доктора сельскохозяйственных наук, профессора, лауреата Государственной премии РФ, заслуженного деятеля науки РСФСР В.И. Будаговского. 2016
6. Исякаева Р.Р., Мажитова М.В., Голубкина Е.В., Сухенко Л.Т., Хазова Н.А. Изучение условий экстракции растения рода Солерос (*Salicornia*)// Актуальные проблемы науки, производства и химического образования: сборник материалов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 21–24 ноября 2018 г. / сост. С.Б. Носачев; под ред. Э.Ф. Матвеевой. Астрахань: Астраханский государственный университет, Издательский дом «Астраханский университет», 2019. С. 19-21.
7. Кирина И.Б. Витаминная ценность плодов некоторых видов и сортов боярышника / И.Б. Кирина, Л.В. Титова, Ф.Г. Белосохов,

К.С. Акимова // Сб.: Инновационные подходы к разработке технологий производства, хранения и переработки продукции растениеводческого кластера: материалы Всероссийской научно-практической конференции. Мичуринск, 2020. С. 64-66.

8. Уранова В.В., Мажитова М.В., Ковалев В.Б. Титриметрическое определение содержания витамина с в плодах шиповника // Фундаментальные и прикладные проблемы получения новых материалов: исследования, инновации и технологии: материалы научных трудов XIII Международной научно-практической конференции, посвященной Международному году периодической таблицы химических элементов Д.И. Менделеева, Астрахань, 23–26 апреля 2019 года. Астрахань: Индивидуальный предприниматель Сорокин Роман Васильевич (Издатель: Сорокин Роман Васильевич), 2019. С. 52-55.

9. Уранова В.В., Мажитова М.В., Уранов И.О. Изучение особенностей технологии водных извлечений на основе тысячелистника // В книге: Актуальные вопросы современного химического и биохимического материаловедения. Материалы V Международной молодежной научно-практической школы-конференции. Башкирский государственный университет; отв. ред. О.С. Куковинец, 2018. С. 278-281.

УДК 544.77, 615

*Васильева П.А., Дмитриева И.Б., Чухно А.С.,
Нестерова Д.И., Чеботова П.А.*

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург
polina.vasileva@spcu.ru

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДИСПЕРСИЙ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА ОСНОВЕ ПЛОДОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ, ВЛИЯЮЩИХ НА ПРОЦЕСС ЭКСТРАКЦИИ

Изучено поверхностное натяжение, вязкость растворов в процессе экстракции плодов софоры японкой. Исследована сорбция ионов H^+ и OH^- . Определены точки нулевого заряда плодов софоры и экстрагируемых флавоноидов. Установлены пределы нахождения изоэлектрической точки экстракта плодов софоры японской методом электрофореза.

Ключевые слова: экстракция, флавоноиды, изоэлектрическая точка, точка нулевого заряда.

*Vasilyeva P.A., Dmitrieva I.B., Chukhno A.S.,
Nesterova D.I., Chebotova P.A.*

St. Petersburg Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg

**STUDY OF PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF DISPERSIONS
OF PLANT RAW MATERIALS BASED ON THE FRUITS OF SOPHORA
JAPONICA, AFFECTING THE EXTRACTION PROCESS**

The surface tension and viscosity of solutions in the process of extraction of the fruits of *Sophora Japonica* were studied. The sorption of H^+ and OH^- -ions was studied. The points of zero charge of *sophora* fruits and extracted flavonoids were determined. The limits of finding the isoelectric point of the extract of Japanese *sophora* fruit by electrophoresis were established.

Key words: extraction, flavonoids, isoelectric point, zero charge point.

Фитопрепараты нашли широкое место в медицине в современном мире. Это происходит благодаря тому, что препараты из лекарственного растительного сырья обладают рядом преимуществ по сравнению с препаратами на основе синтезированных субстанций, к ним относятся: уменьшение побочного действия, низкая стоимость исходного сырья, обширный и комплексный спектр действия [5, 6].

В данной работе в качестве лекарственного растительного сырья использовались плоды софоры японской, которые обладают большим спектром терапевтического действия за счет содержания в них флавоноидов, сапонинов, катехинов и других биологически-активных веществ (БАВ) [3].

Главной задачей фармацевтической отрасли в сфере фитопрепаратов является увеличение выхода экстрактивных веществ. Основные пути решения данной проблемы на сегодняшний день являются варьирование временем, температурой, рН, подбор соответствующих растворителей и применение добавок в процессе экстракции. Однако, на наш взгляд, знания физико-химических свойств дисперсий растительного сырья в тех или иных растворителях могут привести к рассмотрению данного вопроса с новой стороны, что, тем самым, будет способствовать увеличению выхода действующих веществ из лекарственного растительного сырья.

Целью данной работы являлось изучение физико-химических характеристик дисперсии софоры японской.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования использовались плоды софоры японской ТУ 9198-001-0145156605-16. Из данного лекарственного растительного сырья методом перколяции получили вытяжку.

Сырье измельчали до размера частиц 1–3 мм, взвешивали на лабораторных весах Shinko HTR-220 CE 0010104000921.

Отношение сырья к экстрагенту составило 1:4 соответственно. Количество необходимого экстрагента рассчитывали по формуле:

$$V_{\text{растворителя}} = V_{\text{извлечения}} + (m_{\text{сырья}} * K), \quad (1)$$

где $V_{\text{извлечения}}$ — объем необходимого извлечения; $m_{\text{сырья}}$ — масса сырья; K — коэффициент водопоглощения — 2.

Навеску заливали определенным количеством экстрагента. Время выдерживания составляло один час. Далее загружали в перколятор, на дне которого была установлена марля. Выше перколятора помещали делительную воронку, в нее заливали рассчитанное количество экстрагента. В качестве экстрагента использовали дистиллированную воду, дистиллированную воду подкисленную соляной кислотой 0,01 моль/л до определенного значения pH, спирт этиловый и смеси этилового спирта с водой разной концентрации в зависимости от задачи эксперимента. Подачу экстрагента устанавливали таким образом, чтобы скорость подачи была равна скорости выхода вытяжки.

Изучение поверхностного натяжения проводили методом отрыва кольца на приборе Дью-Нуи [4], определение флавоноидов осуществляли спектрофотометрическим методом [2], вязкость оценивали при помощи капиллярного вискозиметра. Сорбция ионов H^+ и OH^- на частицах водной дисперсии софоры определялась методом непрерывного потенциометрического титрования [1, 7], а также при помощи электрофореза. Для исследования зависимости электрокинетического потенциала от времени контакта дисперсных частиц с дисперсионной средой проводили измерения непосредственно после получения вытяжки, через полчаса, 45 минут и через 1 час.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 представлена зависимость поверхностного натяжения экстрагента и экстракта от содержания спирта.

С увеличением содержания спирта поверхностное натяжение уменьшается. Это объясняется тем, что спирт является поверхностно-активным веществом. При использовании воды в качестве экстрагента происходит понижение поверхностного натяжения, что связано с выделением большого количества БАВ, обладающих поверхностной активностью.

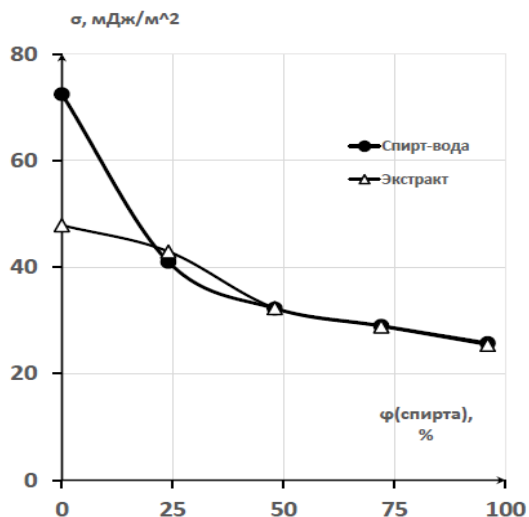


Рис. 1. Зависимость поверхностного натяжения растворов от концентрации спирта для водно-спиртовых растворов и растворов экстрактов

На рис. 2 представлена зависимость вязкости экстрактов от концентрации спирта. Вязкость экстрактов возрастает по мере увеличения содержания спирта, а затем снижается, что согласуется с изменением вязкости соответствующих водно-спиртовых растворов. Соответствие изменения вязкости экстракта и соответствующего экстрагента свидетельствует об отсутствии заметной агрегации частиц софоры.

Был изучен процесс сорбции-десорбции ионов H^+ и OH^- на активных центрах (аминогруппах, карбоксильных и других группах) БАВ. Сорбция ионов H^+ преобладает в кислой области рН и частицы плодов софоры японской заряжены положительно, а в щелочной — OH^- , и заряд отрицательный. На рис. 3 приведены кривые потенциометрического титрования исходного раствора, экстракта и водной дисперсии плодов софоры японской. В кислой области рН кривые титрования экстракта и водной дисперсии софоры идут выше исходной кривой вследствие сорбции ионов H^+ . В щелочной области рН кривые идут ниже исходной кривой за счет сорбции OH^- ионов и десорбции H^+ . Значение рН, соответствующее точке пересечения исходной кривой с другими кривыми, является точкой нулевого заряда ($pH_{ТНЗ}$).

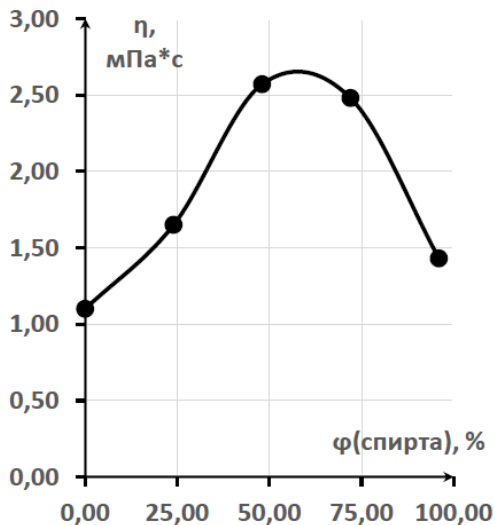


Рис. 2. Зависимость вязкости экстрактов от концентрации спирта

В этой точке происходит равенство количества адсорбированных ионов H^+ и OH^- . $pH_{ТНЗ}$ определяют адсорбционными методами, а изоэлектрическую точку ($pH_{ИЭТ}$) — методом электрофореза. В отсутствие специфической сорбции других ионов $pH_{ИЭТ}$ и $pH_{ТНЗ}$ совпадают. $pH_{ТНЗ}$ водной дисперсии плодов софоры японской составляет 5,8, а экстракта 5,2. Основными составляющими экстракта являются извлеченные БАВ, среди которых преобладают флавоноиды. В водной дисперсии наряду с ними присутствуют частицы плодов софоры японской, определяющие значение $pH_{ТНЗ}$. Отличие $pH_{ТНЗ}$ экстракта и водной дисперсии плодов софоры японской свидетельствует о наличии более прочных связей, чем простое электростатическое взаимодействие между функциональными группами БАВ и частицами софоры.

Спектр поглощения исследуемых растворов подтверждает наличие суммы флавоноидов в исследуемых растворах, что согласуется с литературными данными (наличие двух основных максимумов поглощения, расположенных в диапазоне 320-385 нм и 240-280 нм) [9, 10], также заметно, что количество экстрагированного вещества зависит от состава водно-спиртовой смеси (рис. 4).

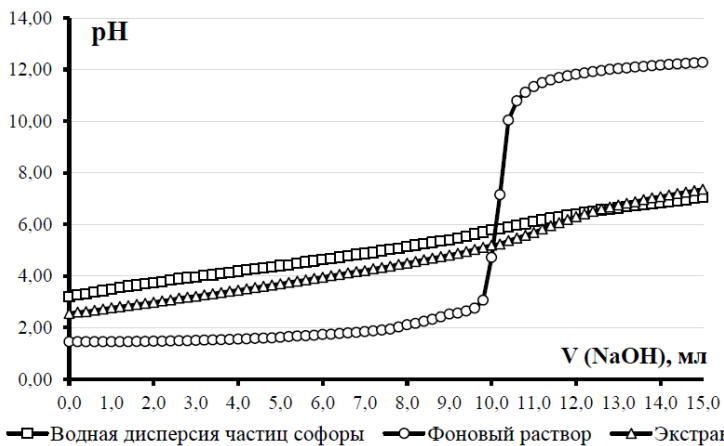


Рис. 3. Кривые потенциометрического титрования водной дисперсии софоры, экстракта и фонового раствора

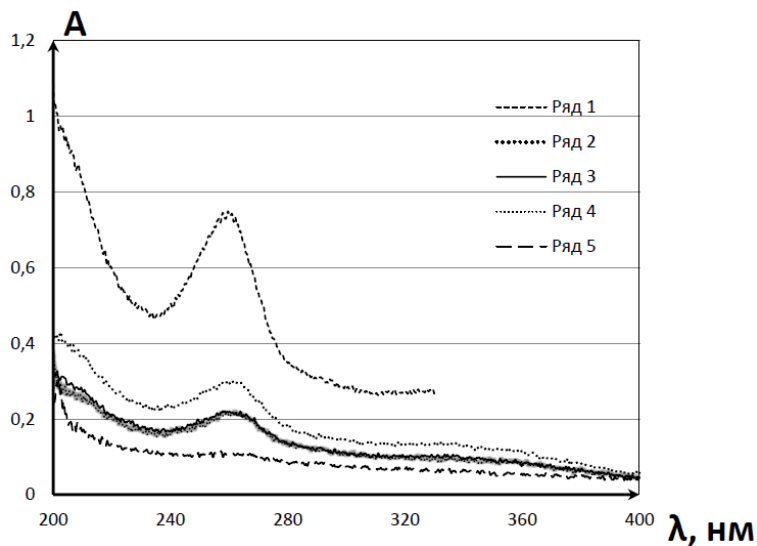


Рис. 4. Спектр экстракта софоры японской при разных экстрагентах (ряд 1 — вода, ряд 2 — концентрация спирта 24%, ряд 3 — концентрация спирта 48%, ряд 4 — концентрация спирта 72%, ряд 5 — концентрация спирта 96%)

На рис. 5 приведена зависимость ζ -потенциала от времени контакта дисперсных частиц с растворами HCl (pH 2,80; 3,10, и 5,29). При всех значениях pH равновесие устанавливается в течение 30 минут. Это время соответствует оптимальному времени для процесса экстракции БАВ из плодов софоры японской.

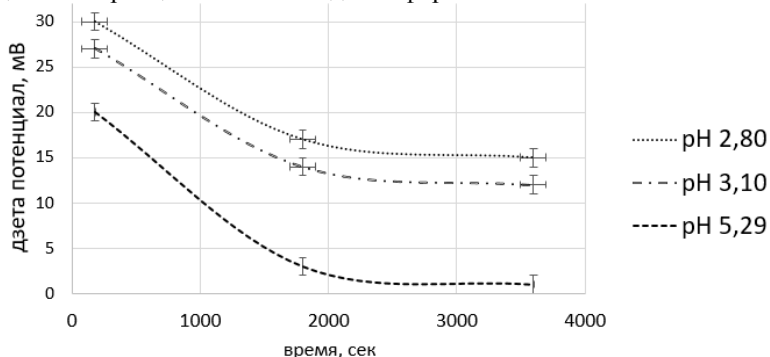


Рис. 5. Зависимость ζ -потенциала от времени контакта дисперсных частиц и растворителя при pH дисперсии 2,80; 3,10; 5,29

Рассмотрим зависимость ζ -потенциала от pH среды через 30 минут после приготовления дисперсий плодов софоры японской (рис. 6).

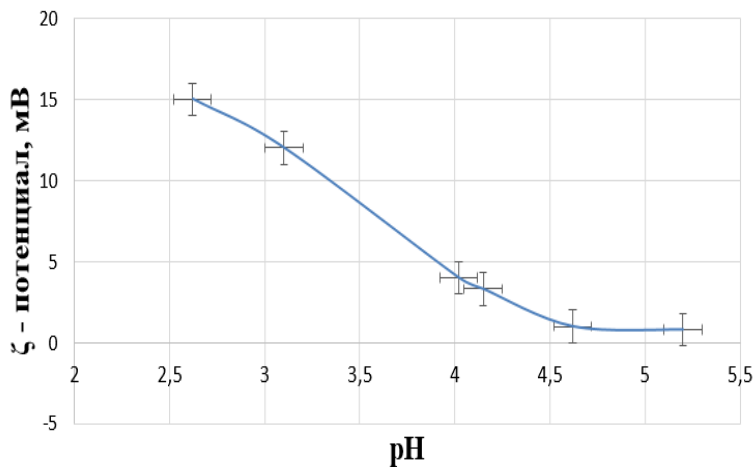


Рис. 6. Зависимость ζ -потенциала от pH среды

Частицы плодов софоры японской заряжены положительно и с ростом рН величина электрокинетического потенциала уменьшается. Образование заряда на частицах софоры происходит за счет процессов адсорбции и десорбции ионов H^+ и OH^- на активных центрах [8].

В кислой области преобладает сорбция ионов H^+ и частицы заряжены положительно, а в щелочной OH^- и заряд отрицательный. Значение изоэлектрической точки $pH_{ИЭТ}$ для данной системы находится вблизи $pH \sim 6$. На процесс установления равновесия наряду с адсорбцией (десорбцией) ионов H^+ и OH^- влияет и экстракция различных БАВ из диспергированных частиц софоры.

Выводы

Установлено, что в процессе экстракции водой из плодов софоры японской извлекаются БАВ, обладающие поверхностной активностью. Изменение вязкости экстракта связано с природой водно-спиртовых растворов, а агрегация частиц плодов софоры японской в экстракте отсутствует.

Подтверждено спектрофотометрически наличие в экстракте флавоноидов.

Установлено, что $pH_{ТНЗ}$ экстракта плодов софоры японской составляет 5,8, экстрагируемых флавоноидов — 5,2, что близко к $pH_{ИЭТ}$, полученным при помощи электрофореза.

Выявлено, что при $pH < 6$ частицы измельченных плодов софоры японской заряжены положительно вследствие адсорбции ионов H^+ , так как с уменьшением концентрации ионов водорода в системе положительное значение электрокинетического потенциала уменьшается.

Определено, что время установления адсорбционного равновесия для изученной дисперсии составляет 30 минут.

Список литературы

1. Дмитриева И.Б., Кергенцев А.А., Чухно А.С. Определение констант диссоциации карбоксильных и аминогрупп на альбумине методом потенциометрического титрования // Бутлеровские сообщения. 2015. Т. 41, № 3, С. 141-146
2. Ковалева Л.Г., Сампиев А.М. Исследование фенольных соединений плодов софоры японской // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 6. 1014 с.
3. Ковалева Л.Г., Сампиев А.М., Хочава М.Р., Никифорова Е.Б. Современное состояние и перспективы дальнейшего изучения плодов софоры японской // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2012. № 22 (141). Вып. 20. С. 163-170.

4. Павлова Е.Ю., Дмитриева И.Б., Кергенцев А.А., Дроздов М.А., Егорова А.Р., Руденко А.Э., Илларионова А.В. Влияние концентрации дисперсной фазы и кислотности среды на коллоидные свойства водных растворов яичного альбумина и сывороточного альбумина человека // Бутлеровские сообщения. 2018. Т. 53, № 3. С. 43-48.

5. Рубан Е.А., Куценко С.А., Кутовая О.В., Ковалевская И.В. Оптимизация параметров экстрагирования лекарственного растительного сырья для получения настойки «Венотон» // Вестник фармации. 2014. № 2 (64). С. 37-41.

6. Синютина С.В., Романцова С.В., Савельева В.Ю. Экстракция флавоноидов из растительного сырья и изучение их антиоксидантных свойств // Вестник ТГУ. 2011. Т. 16, № 1 С. 345-347.

7. Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Колодеева С.С., Мартынов Д.В. Адсорбция ионов H^+ и OH^- на коллагене // Вестник Санкт-Петербургского университета. Физика и химия. 2011. № 3. С. 87-95.

8. Kurkin V.A. The modern aspects of the chemical classification of biologically active compounds // Farmatsiya. 2002. Vol. 50, No. 2, pp. 8–16 (in Russian)

9. Markham K.R. Techniques of Flavonoid Identification / K.R. Markham. London: Academic Press, 1982. 113 p

10. Markham K.R. Ultraviolet-visible and proton magnetic resonance spectroscopy of flavonoids/ K.R. Markham, T.J. Marby // The flavonoids / W. Barz [et al]; eds. J.B. Harbone, T.J. Marby, H. Marby. N.Y., 1975. P. 45-77.

УДК 547.442.3

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

УО «Белорусский государственный педагогический университет имени Максима Танка»

Республика Беларусь, Минск

ogeiko@rambler.ru, kozyrevskaya@tut.by

К ВОПРОСУ СИНТЕЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Синтез органических веществ, обладающих терапевтическим эффектом, является важной задачей органической химии. Так, химиками-синтетиками были разработаны схемы синтеза, являющиеся базой для создания антибиотических, противомикробных и противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: органическая химия, цис-диамминоплатиновые комплексы, 2-ацилциклогексан-1,3-дионы, дикетоны.

ON THE ISSUE OF DRUG SYNTHESIS

The synthesis of organic substances with therapeutic effects is an important task of organic chemistry. Thus, synthetic chemists have developed synthesis schemes that are the basis for the creation of antibiotic, antimicrobial and anticancer drugs.

Key words: organic chemistry, cis-diaminoplatinum complexes, 2-acylcyclohexane-1,3-diones, diketones.

Одной из актуальных задач, которые позволяет решать органическая химия, является синтез веществ, обладающих выраженным терапевтическим эффектом. Кроме того, есть необходимость синтеза биологически активных препаратов, которые могут быть выделены из биологических объектов, но в маленьких количествах.

Так, одним из направлений работы химиков-органиков является поиск перспективных для получения противоопухолевых препаратов веществ на основе координационных соединений платины [1-3].

В работе [4] предложен синтез новых цис-диамминоплатиновых комплексов **3**, в которых в качестве бидентатных ацидолигандов выступают производные 2-ацилциклогексан-1,3-дионов (схема 1). Синтез осуществлен путем превращения цис-диамминдихлоридоплатины (II) **1** под действием сульфата серебра в цис-диамминсульфатоплатину (II) **2** с последующей обработкой гидроксидом бария и взаимодействия полученного основания с двукратным избытком трикарбонильного соединения (см. схему 1).

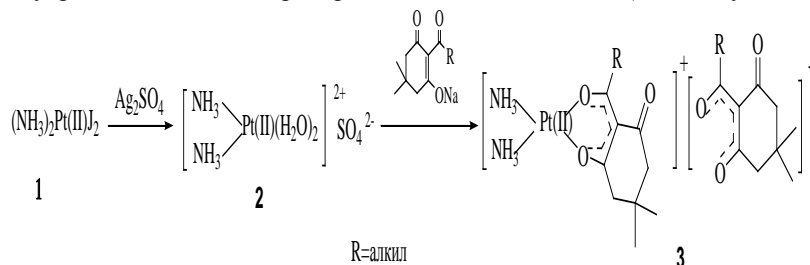
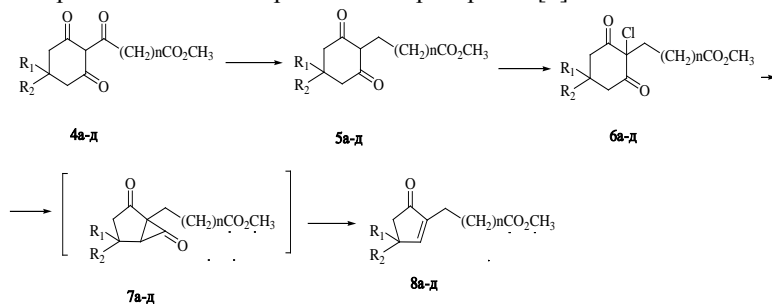


Схема 1

2-Ацилциклогексан-1,3-дионы, содержащие α -метиленовую группу в боковой ацильной цепи, являются удобными синтонами для получения, например, антибиотиков глутаримидного ряда [5].

Дикетоны **5а-д** при обработке трет-бутилгипохлоритом превращаются в хлордикетоны **6а-д**, при кипячении которых в ксилоле с безводным карбонатом натрия происходит перегруппировка в циклопентеноны **8а-д** в соответствии с предложенным ранее механизмом [6] через промежуточное образование производных циклопропилкетон α -кетон β -кетон **7а-д** с последующим термическим элиминированием окиси углерода. Предложенная схема является удобным подходом к синтезу 2-циклопентен-1-оновых синтонов для 11-дезоксид- и 11-алкиламещенных прогестероидов, представляющих практический интерес в качестве лекарственных препаратов [7].



4-8: R₁=R₂=H, n=5 (**а**); R₁=H, R₂=CH₃, n=5 (**б**); R₁=H, R₂=Me, n=4 (**в**); R₁=H, R₂=CH₃, n=2 (**г**); R₁=R₂=CH₃, n=4 (**д**)

Схема 2

Химики-синтетиками предложено и апробировано достаточно много схем, позволяющих получать вещества, которые могут быть не только аналогами уже существующих лекарственных препаратов, но и совершенно новых групп, обладающих выраженным терапевтическим эффектом.

Список литературы

1. Wiseman L.R. Oxaliplatin — a review of its use in the management of metastatic colorectal cancer / L.R. Wiseman // Drug aging. 1999. Vol. 14. P. 317-325.
2. Mini review: discovery and development of platinum complexes designed to circumvent cisplatin resistance / I. Judson [et al.] // JIB. 1999. Vol. 77. P. 111-115.
3. Current status of platinum-based antitumor drugs / C.M. Gian-domenico [et al.] // Chemical Reviews. 1999. Vol. 99, № 9. P. 2451-2466.

4. Хлебникова Т.С. Синтез координационных соединений платины (II) с производными 2-ацилциклоалкан-1,3-дионов в качестве ацидолиганда / Т.С. Хлебникова, И.В. Меркушин, Ф.А. Лахвич // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. 2004. Т. 2. С. 110-143.

5. Буравская Т.Н. Синтез аналогов глутаримидных антибиотиков с сопряженным енаминодикетонным фрагментом / Т.Н. Буравская, Ф.А. Лахвич // Журнал органической химии. 1996. Т. 32, вып. 7. С. 1010-1015.

6. New synthesis of cyclopentenones. Methyl jasmonate and jasmone / G.V. Vuchi [et al.] // J. of Organic Chemistry. 1971. Vol. 36, № 14. P. 2021-2032.

7. Лахвич Ф.А. Алкилированные прогестаноиды: синтез и биологическая активность / Ф.А. Лахвич, В.А. Козинец // Итоги науки и техники: орг. химия. Москва: ВИНТИ, 1991. Т. 21. С. 1-95.

УДК 615.31

Галиулин А.Р., Катаева Н.Н., Белоконова Н.А.

ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет» Минздрава России
Екатеринбург
artur.galiulin.2001@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА ЦИКЛОФЕРОНА

В статье приведены результаты измерений водородного показателя и удельной электропроводности водных растворов противовирусного препарата циклоферона разной концентрации. Изучена способность циклоферона к адсорбции на полярном и неполярном сорбентах. Теоретически обоснована взаимосвязь между физико-химическими свойствами раствора и механизмом противовирусного действия циклоферона.

Ключевые слова: циклоферон, физико-химические свойства, противовирусный препарат.

RESEARCH OF THE ANTI-VIRAL DRUG CYCLOFERON PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

The article presents the results of measurements of the pH and specific electrical conductivity of aqueous solutions of the antiviral drug cycloferon of various concentrations. The ability of cycloferon to adsorb on polar and non-polar sorbents was studied. The relationship between the physicochemical properties of the solution and the mechanism of the antiviral action of cycloferon has been theoretically substantiated.

Key words: cycloferon, physico-chemical properties, antiviral drug.

Введение. На сегодняшний день применение противовирусных препаратов является одним из ключевых этапов в протоколах лечения и профилактики различных инфекционных заболеваний. Противовирусные средства обладают разными механизмами действия, в зависимости от того, на какую стадию взаимодействия вируса с клеткой они направлены.

Циклоферон относится к группе иммуностимуляторов и входит в российский список жизненно необходимых лекарственных средств, эффективен против таких вирусов как клещевой энцефалит, грипп, гепатит, герпес, цитомегаловирус и ВИЧ [1].

Циклоферон (меглумина акридоацетат, метилглукамина акридоацетат) — один из наиболее эффективных и перспективных низкомолекулярных синтетических индукторов интерферона (ИФН, IFN). Индукторы интерферона представляют собой семейство высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений, стимулируют пролиферацию, дифференцировку клеток костного мозга, используя механизмы естественного (врожденного) и адаптивного иммунитета. Индукторы интерферона можно рассматривать как самостоятельный класс гетерогенных природных и синтетических соединений, которые способны «включать» систему интерферона, вызывая в клетках организма синтез собственных (эндогенных) интерферонов [3, 5, 6].

Различные формы лекарственных препаратов обуславливают особенности их физико-химических свойств. Исследуемый препарат имеется в трёх лекарственных формах: таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой; раствор для внутримышечного и внутривенного введения; линимент. Например, линимент не требует высокой биологической доступности, поэтому используется в

гинекологии при лечении вагинальных инфекций. Раствор для внутримышечного и внутривенного введения используют для иммуностимулирования при ВИЧ-инфекции, в связи с высокой биодоступностью в крови.

Механизм действия лекарственных средств обусловлен не только уникальной химической природой основного действующего вещества, но и физико-химическими свойствами их растворов.

Цель настоящего исследования — изучить ряд физико-химических свойств водных растворов противовирусного химиотерапевтического препарата циклоферона.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования был взят препарат циклоферона в форме раствора для инъекций с массовой долей основного действующего вещества 12,5%. В ходе работы была приготовлена серия водных растворов циклоферона разной концентрации (от 0,02 до 0,125%) методом разбавления. Диапазон выбранных концентраций соответствует интервалу от минимальной до максимальной концентрации лекарственного вещества в плазме крови, увеличенной в 10 раз.

Для водных растворов циклоферона с точной концентрацией были измерены водородный показатель, удельная электропроводность и оптическая плотность. Изучена способность циклоферона к адсорбции на сорбентах разной природы. При этом навеску сорбента смешивали с раствором, выдерживали в течение 10 минут, затем отфильтровывали. Концентрацию циклоферона в фильтрате после адсорбции определяли по калибровочному графику зависимости оптической плотности от концентрации. рН растворов устанавливали с помощью рН-метра со стеклянным электродом «рН-150МИ» (ООО «Измерительная техника», Москва; погрешность измерения $\pm 0,05$). Определение удельной электропроводности производили на кондуктометре «Анион 7020» (ООО НПП «Инфраспек-Аналит», Новосибирск; погрешность измерения $\pm 2\%$). Оптическую плотность растворов мерили на приборе «СФ-2000» (ООО «ОКБ Спектр», Санкт-Петербург), при длине волны 430 нм, длина оптического пути 10 мм. Диаграммы и графики зависимостей «свойство-концентрация» строили в программе Microsoft Excel.

Результаты зависимости рН исследуемых водных растворов от концентрации (0,02%-0,125%) приведены на рисунке 1.

Результаты и их обсуждение. На графике видно, что уровень рН относится к слабощелочной среде в интервале 8,9–9,0. Циклоферон представляет собой водный раствор соли меглумаина акридон-ацетата, щелочная среда свидетельствует о том, что соль гидролизует по аниону акридоноуксусной кислоты. При увеличении кон-

центрации вещества щелочность среды возрастает, так как в растворе увеличивается концентрация свободных гидроксогрупп.

На рисунке 2 показан график изменения удельной электропроводности в зависимости от концентрации раствора циклоферона. С увеличением концентрации водного раствора удельная электропроводность возрастает из-за увеличения количества свободных ионов меглумина акридоната. Ионная форма циклоферона обуславливает его способность присоединяться к мембране митохондрии и оказывать опосредованное противовирусное действие — через ингибирование функций основных ферментов дыхательной цепи клетки убихинонов или ингибирование связывания АТФ с митохондриальным АДФ/АТФ зависимым транспортным белком путем специфического ковалентного присоединения акридонуксусной кислоты по пептидной связи лизин-цистеин [2].

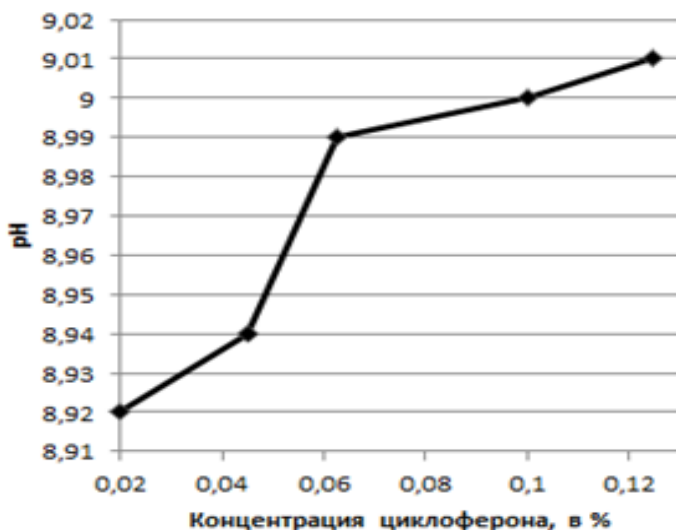


Рис. 1. График зависимости водородного показателя от концентрации препарата

Для изучения способности циклоферона к адсорбции на сорбентах разной природы были взяты черный уголь — неполярный сорбент и белый уголь (оксид кремния IV) — полярный сорбент. На рис. 3 приведены результаты измерения концентраций раствора циклоферона до и после адсорбции.

На диаграмме видно, что концентрация циклоферона в растворах после адсорбции уменьшается, при этом концентрация противовирусного вещества в растворе после адсорбции на белом угле меньше, чем на черном угле. Это свидетельствует о том, что циклоферон лучше адсорбируется на полярном сорбенте. Сродство циклоферона к полярным сорбентам характеризует его способность прикрепляться к клеточным мембранам за счет межмолекулярного взаимодействия. Наружная поверхность мембран клеток представлена полярными верхушками фосфолипидов, этим свойством и объясняется точечная направленность на мембраны иммунных клеток. Отмечено, что циклоферон обладает высокой тропностью к клеткам иммунной системы [4].

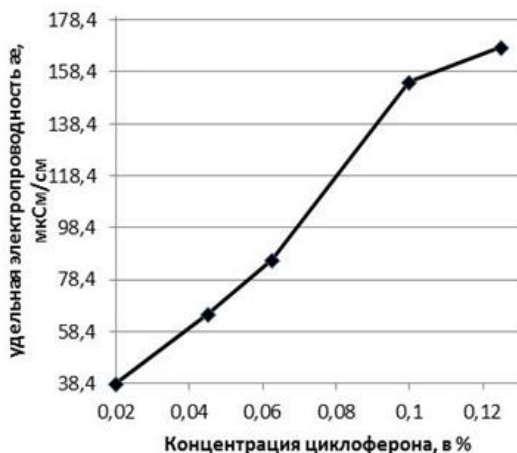


Рис. 2. График зависимости удельной электропроводности от концентрации препарата

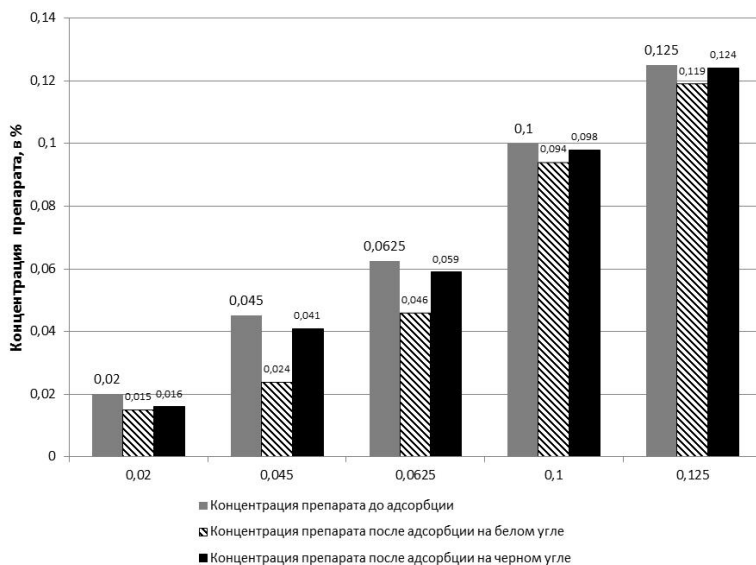


Рис. 3. Концентрация циклоферона до и после адсорбции

Выводы

1. Водный раствор циклоферона имеет слабощелочную среду (рН~9). Это связано с тем, что лекарственная форма циклоферона, представленная в виде соли — меглумина акридоацетата, в воде подвергается гидролизу по аниону. Таким образом, в водном растворе образуются молекулы акридоноуксусной кислоты, обладающие основным противовирусным действием.

2. С увеличением концентрации циклоферона возрастает удельная электропроводимость растворов, рост электропроводности происходит нелинейно, что характерно для поведения в растворах слабых электролитов.

3. Циклоферон способен к адсорбции как на полярном, так и на неполярном сорбентах, причем способность к адсорбции на полярном сорбенте выражена в большей степени.

Список литературы

1. Валиева Р.М. Применение циклоферона в комплексном лечении заболеваний пародонта / Валиева Р.М., Исмаилов К.Р. Исмаилов Р.М. // Вестник Казахского национального медицинского университета. 2017. №1. С. 218-220.

2. Коваленко А.Л. Алексеева Л.Е. Циклоферон в клинической практике. СПб., 2000. С. 17-19.
3. Романцов М.Г. Циклоферон — опыт применения в детской практике / Романцов М.Г., Горячева Л.Г., Коваленко А.Л. // Детские инфекции. 2008. № 4. С. 62-68.
4. Романцов М.Г. Применение циклоферона в педиатрической практике: методическое пособие. Санкт-Петербург, 2000. С. 100.
5. Иммунология и аллергология / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова, А.В. Караулова. М., 2006. С. 99-102.
6. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью: учебное пособие с грифом УМО-639-2004 / под ред. М.Г. Романцова. Москва, 2005. 74 с.

УДК 577.175.6

Горбацевич Г.И., Ильяшенко С.А.

Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, Минск
hleb.harbatsevich@gmail.com

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ РЕЙНУТРИИ ЯПОНСКОЙ

В работе исследована *in vitro* антиоксидантная активность фракций различной полярности, полученных из водно-спиртового экстракта листьев Рейнутрии японской. Показано, что наиболее богатые фенольными соединениями (144,0-686,5 мкг/г) этилацетатная и бутанольная фракция отличаются наибольшей радиакалингибирующей активностью в отношении DPPH (68,9-71,1 мкг/мл) и ABTS (67,3-68,1 мкг/мл).

Ключевые слова: рейнутрия японская, экстракты, антиоксидантная активность, фенольные соединения, флавоноиды.

Harbatsevich H.I., Ilyashenko S.A.

Belarusian State University, Minsk

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF REYNOUTRIA JAPONICA LEAVES EXTRACT

In this work the antioxidant activity of the fractions with different polarity, obtained from water-ethanol extracts from Reynoutria japonica leaves, has been investigated. It has been shown, that the most phenol-rich (144,0-686,5 µg/g) ethyl acetate and butanol-1 fractions demonstrated the highest radical scavenging activity against DPPH (68.9-71.1 µg/ml) и ABTS (67.3-68.1 µg/ml).

Key words: *Reynoutria japonica*, extracts, antioxidant activity, phenolic compounds, flavonoids.

Рейнутрия японская отличается быстрыми темпами роста (1 см за 3 дня) и абсолютной неприхотливостью. Именно поэтому она входит в десятку самых опасных инвазивных растений. Для медицины препараты рейнутрии японской интересны как источник фенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью. Для каждого организма чрезвычайно важной стала проблема сохранения своей целостности и качественного своеобразия в условиях агрессивной окислительной среды. Поэтому антиоксиданты, как соединения, поддерживающие устойчивость к самоокислению, широко распространены в природных объектах, в том числе в растительном и животном мире. Большинство природных антиоксидантов являются фенольными соединениями, к которым относятся функционально замещенные фенолы и полифенолы, флавоноиды, токоферолы, производные оксикоричных кислот [1]. Основная часть фенольных антиоксидантов имеет растительное происхождение, однако они являются и незаменимыми компонентами организма животных и человека, поступая в основном с растительной пищей [1]. Таким образом, использование листьев рейнутрии японской в качестве источника фенольных антиоксидантов позволит применить инвазивное растение в фармацевтических целях.

Цель данной работы состоит в определении взаимосвязи между содержанием фенольных соединений и антиоксидантной активностью фракционированных экстрактов рейнутрии японской листьев.

Для получения сырого водно-спиртового экстракта использовался метод циркуляционной экстракции по Сокслету. Сырье, собранное в июле в Минском районе, Республика Беларусь, экстрагировали 12 часов 70% (об/об) этиловым спиртом. Далее растворитель отгоняли под вакуумом, экстракт сушили при 50 °С и хранили его в холодильнике для дальнейшего использования. Для изучения антиоксидантной активности экстракт подвергали фракционированию. Для этого 0,5 г сухого экстракта диспергировали в 30 мл воды, а затем последовательно взбалтывали 3 порциями по 20 мл петролейного эфира (ПЭ), хлороформа (ХЛ), этилацетата (ЭА) и бутанола-1 (БУТ). Органические фракции отделяли, обезвоживали безводным натрия сульфатом и отгоняли растворитель под вакуумом.

Общее содержание фенольных соединений (ТРС) определяли с использованием реактива Фолина–Чокалтеу [2]. Калибровочный график строили по стандартным растворам галловой кислоты. Общее содержание фенольных соединений (ТРС) выражалась в экви-

валентном содержании галловой кислоты (мг) в единице массы сухого экстракта (г).

По результатам теста на ТРС (таблица 1) этилацетатная и бутанольная фракции содержат максимальное количество фенольных соединений, в то время как в неполярных фракциях их практически не обнаруживается. Это согласуется со способностью фенольных соединений легко растворяться в этилацетате (агликоны) и бутаноле-1 (гликозиды).

В растительных экстрактах фенольные соединения часто представлены флавоноидами. Общее содержание флавоноидов (ТФС) проводили по спектрофотометрической методике определения их в форме комплексов с катионами Al(III) [3]. Калибровочный график строили по стандартным растворам рутин. Содержание флавоноидов (мг/г) в сухом экстракте выражали в пересчете на рутин.

Таблица 1. Общее содержание фенольных соединений во фракционированном экстракте

Фракция (образец)	ПЭ	ХЛ	ЭА	БУТ	Водный остаток
ТРС, мг /г (в пересчете на галловую кислоту)	–	–	686,5±3,6	144,0±1,2	–

Таблица 2. Общее содержание флавоноидов во фракционированном экстракте

Фракция (образец)	ПЭ	ХЛ	ЭА	БУТ	Водный остаток
ТФС, мг/г (в пересчете на рутин)	–	74,7±0,8	1876,7±4,3	448,8±3,2	31,0±0,4

По результатам испытания на ТФС этилацетатная и бутанольная фракции содержат значительное количество флавоноидов и являются перспективными их источниками. Фракция ПЭ не содержит флавоноидов, что согласуется с теорией: в петролейный эфир экстрагируются неполярные вещества (хлорофиллы, каротиноиды), а полярные остаются в водной фазе и затем извлекаются полярными растворителями (этилацетат, бутанол-1). В этилацетатную фракцию извлекаются агликоны флавоноидов, а в бутанольную фракцию извлекаются их гликозиды.

Антиоксидантную активность фракций оценивали по их способности ингибировать 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил радикал (DPPH).

Метод основан на восстановлении 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразила радикала в спиртовом растворе, имеющим фиолетовую окраску, в дифенилпикрилгидразин, раствор которого окрашен в желтый цвет. Спектрофотометрически при длине волны 517 нм определяли остаточное содержание DPPH-радикала в растворе.

Степень ингибирования экстракта определяли по формуле:

$$I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

где I — степень ингибирования, %;

A_0 — оптическая плотность контрольного опыта (без добавления экстракта);

A_1 — оптическая плотность основного опыта (с добавлением экстракта).

На основании данных о степени ингибирования при различных концентрациях экстрактов рассчитывали концентрацию полумаксимального ингибирования (IC_{50} , мкг/мл) [4].

Фракция ПЭ практически не проявляет радикал-нигибирующей активности, в то время как наибольшую ингибирующую активность в отношении DPPH продемонстрировали этилацетатная и бутанольная фракции.

Таблица 3. Радикал-ингибирующая активность фракций в отношении DPPH радикала

Фракция (образец)	ПЭ	ХЛ	ЭА	БУТ	Исходный экстракт
IC_{50} , мкг/мл	–	319,5±1,4	71,1±3,3	68,9±2,3	115,6±4,4

Для подтверждения экспериментальных данных также была изучена способность экстрактов ингибировать радикальный катион 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS). Для этого использовалась спектрофотометрическая методика [5].

Таблица 4. Радикал-ингибирующая активность фракций в отношении ABTS

Фракция (образец)	ПЭ	ХЛ	ЭА	БУТ	Исходный экстракт
IC_{50} , мкг/мл	452,1±7,4	281,2±3,2	67,3±0,6	68,1±1,4	150,3±5,4

Данные, представленные в табл. 4, согласуются с данными о радикал-ингибирующей активности в отношении DPPH (см. табл. 3): наибольшую активность проявляют фракции ЭА и БУТ, в то время как фракции, полученные с использованием петролейного эфира и хлороформа, являются сравнительно малоактивными. Экспериментально полученные данные по антиоксидантной активности согласуются с теоретически ожидаемыми и результатами определения содержания фенольных веществ и флавоноидов (см. табл. 1 и 2).

Таким образом, наиболее богатые фенольными соединениями (144,0-686,5 мкг/г) этилацетатная и бутанольная фракция отличаются наибольшей радикал-ингибирующей активностью в отношении DPPH (68,9-71,1 мкг/мл) и АВТС (67,3-68,1 мкг/мл). Высокое содержание фенольных соединений, и, как следствие, выраженная антиоксидантная активность исследованных экстрактов свидетельствуют о перспективности этих объектов для дальнейшей фармацевтической разработки.

Список литературы

1. Сорокина И.В. Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободнорадикальному окислению / И.В. Сорокина, А.П. Крысин, Т.Б. Хлебникова и др. СО РАН; ГПНТБ, Новосиб. ин-т орган. химии. Новосибирск, 1997. 68 с.
2. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species / I.M.C. Brighente [et al.] // *Pharmaceutical Biology*. 2007. №45. P. 156-161.
3. Bashir S. Studies on the antioxidant and analgesic activities of Aztec marigold (*Tagetes erecta*) flowers / S. Bashir, A.H. Gilani // *Phytotherapy Research*. 2008. №22. P. 1692-1694.
4. Brand-Williams W. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity / W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset // *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 1995. №28. P. 25-30.
5. Khodos M.Ya. Monitoring of oxidative stress in biological objects / M.Ya. Khodos, Ya.E. Kazakov [et al.] // *Bulletin of the Ural medical academic science*. 2017. Vol. 14, № 3. P. 262-274.

УДК 547.9

Дадали В.А.¹, Соколова Е.А.², Степанова Н.П.³

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России
Санкт-Петербург

¹*VDadali@mail.ru*, ²*Elena.Sokolova@szgmu.ru*,

³*Natalya.Stepanova@szgmu.ru*

АПОКАРОТИНОИДЫ РАСТЕНИЙ. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ БИОХИМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

В работе описаны пути образования, спектральные свойства, применение и некоторые аспекты биохимического действия и практического значения апокаротиноидов как продуктов эксцентрического расщепления β -каротина и его аналогов.

Ключевые слова: природные соединения, апокаротиноиды, методы исследования каротиноидов, сигнальные молекулы, ретиноидные ядерные рецепторы.

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

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

APOCAROTINOIDS OF PLANTS. SOME ASPECTS OF THE BIOCHEMICAL ACTION

The paper describes the ways of formation, spectral properties, application and some aspects of the biochemical action and practical significance of apocarotenoids as products of eccentric cleavage of β -carotene and its analogues.

Key words: natural compounds, apocarotenoids, methods of studying carotenoids, signaling molecules, retinoid nuclear receptors.

Актуальность. Провитаминная активность каротиноидов исследуется с середины XX века. В настоящее время описаны ферменты (β , β -каротин-15,15'-оксигеназа (BCO1, 2000 г.) и др.), катализирующие расщепление молекулы β -каротина и его 50–60 аналогов по центральной двойной связи с образованием ретиналя, превращающегося затем в ретинол и ретиноевую кислоту (рис. 1). Фермент BCO1 выделен не только из растений, но и из клеток тканей птиц (цыплят), мышей и человека и охарактеризован биохимически (для фермента мышей $K_m=6-31$ мкмоль/л) [1–3].

Показано соотношение β -каротин/ретинол в организме человека, равное 6/1, свидетельствующее о наличии альтернативного пути расщепления молекулы β -каротина; наряду с продуктами центрального расщепления обнаружены и продукты эксцентрического расщепления, названные апокаротиноидами: β -апокаротинолы и β -апокаротиноны (рис. 1).

Так, β -апо-10'-каротинол и β -ионин являются продуктами действия фермента β, β -каротин-9',10'-оксигеназы (VCO₂, 2001 г.), и для фермента мышей, и для фермента человека $K_m=3,5 \pm 1,1$ мкмоль/л [3]. Установлено, что фермент VCO₁ способен расщеплять не только каротиноиды, но и некоторые продукты их эксцентрического метаболизма: β -апо-8'-каротинол и β -апо-4'-каротинол, правда, со скоростью в 10 раз меньшей скорости расщепления основного субстрата. Кроме ферментов VCO₁ и VCO₂, β -апокаротиноиды образуются в результате действия и других ферментов: пероксидаз и липооксигеназ. Идентифицированы и расшифрованы ферменты диоксигеназы (carotenoid cleavage dioxygenases, CCD) микроорганизмов (грибов, бактерий и микроводорослей), расщепляющие β -каротин на β -апо-8'-каротинол [4]. Возможны также и неферментативные пути окислительного расщепления двойных связей каротиноидов.

В последнее десятилетие в литературе много внимания уделяется образованию апокаротиноидов в клетках растений, микроорганизмов, высших животных и человека. Однако их биологическая роль и механизм действия описаны недостаточно. Наиболее интересным представляется действие этих метаболитов на ретиноидные ядерные рецепторы и их сигнальные пути.

Целью данной работы стал анализ и обобщение литературных данных о строении, свойствах и некоторых механизмах биохимического действия апокаротиноидов.

Введение. Современные исследования апокаротиноидов включают три основных направления: содержание в растительных продуктах питания и тканях животных, а также пути поступления в организм человека; ферментативные и неферментативные пути образования в организме высших животных и человека; их физиологическое и биохимическое действия [3]. Основное внимание в работе уделено растительным апокаротиноидам и биохимическим механизмам их действия.

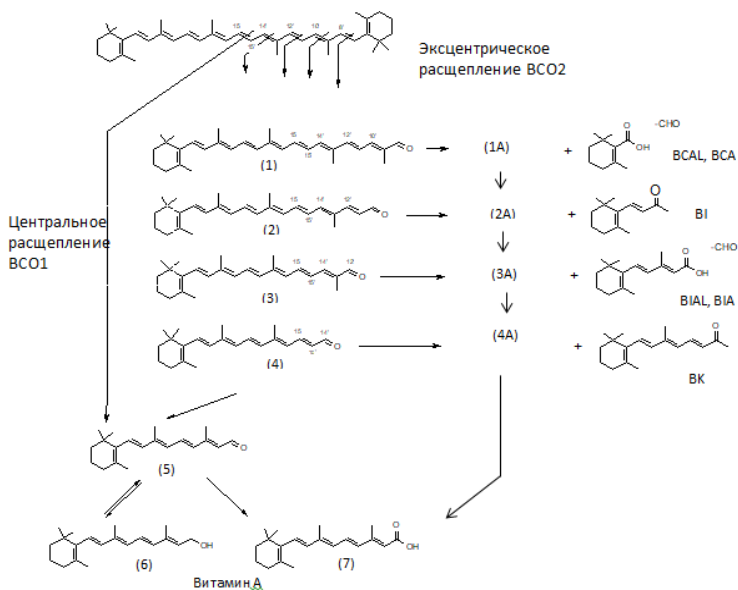


Рис. 1 [3]. Пути центрального и эксцентрического расщепления β -каротина. Симметричное центральное расщепление осуществляется ферментом BCO1 с образованием ретиналя, который далее окисляется до транс-ретиноевой кислоты и восстанавливается до ретинола ферментами ретинальдегидрогеназами. Второе направление метаболизма — эксцентрическое расщепление по другим двойным связям, отличным от связи 15,15' с образованием молекул апокаротиноидов разной длины. Эксцентрическое расщепление по связи 9,10, катализируемое ферментом BCO2, приводит к образованию β -апо-10'-каротиналя и β -иона. Другие направления эксцентрического расщепления могут быть и неферментативными.

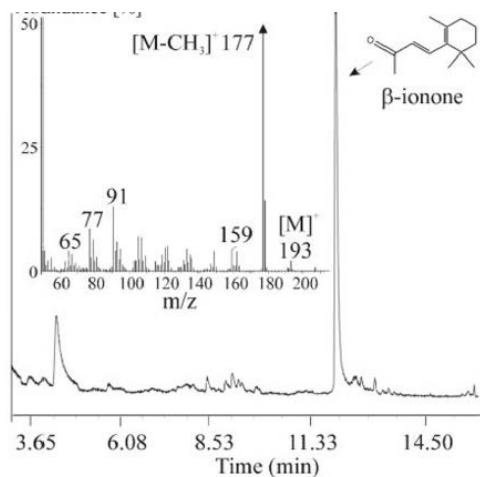
(1) β -Апо-8'-каротиналь; (1A) β -апо-8'-каротиновая кислота; (2) β -апо-10'-каротиналь; (2A) β -апо-10'-каротиновая кислота; (3) β -апо-12'-каротиналь; (3A) β -апо-12'-каротиновая кислота; (4) β -апо-14'-каротиналь; (4A) β -апо-14'-каротиновая кислота; (5) ретиналь; (6) ретинол; (7) транс-ретиноевая кислота; BCA — β -циклогераниевая кислота; BCAL — β -циклоцитраль; BI — β -ион; BIAL — β -ионилиденальдегид; BIA β -ионилиденуксусная кислота; BK — β -апо-13-каротинон

Методы исследования апокаротиноидов [3]. Наиболее эффективным методом количественного определения апокаротиноидов в каротиносодержащих продуктах питания (цитрусовых, бахчевых культурах и др.), а также в сыворотке крови и тканях экспериментальных животных (мышей) и человека является *хромато-масс-спектроскопия*, с помощью которой в растительных продуктах были обнаружены β -апо-8'-, β -апо-10'-, β -апо-12'- и β -апо-14'-каротинали и β -апо-13-каротинон, а в сыворотке крови и печени мышей — β -апо-10'- и β -апо-12'-каротинали [5].

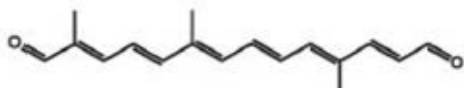
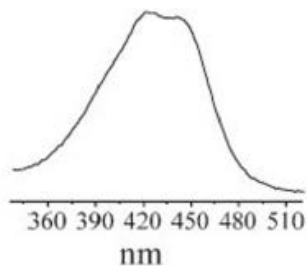
Многие апокаротиноиды (например, цитранаксантин, парацетрон) синтезируются известными химическими методами с использованием реакций Виттига, Хорнера-Уодсворта-Эммонса и др. Продукты выделяют и очищают ВЭЖХ и препаративной ТСХ. Их состав и химическая структура подтверждаются методами УФ (рис. 2А), ИК и масс-спектропии (рис. 2Б) и спектроскопии ЯМР [5]. Методы трансактивации ретиноидных рецепторов используются для исследований *in vitro* действия апокаротиноидов на сигнальные пути ядерных рецепторов.

Апокаротиноиды растительной пищи и их использование. Растительные апокаротиноиды представлены фитогормонами (абсцизовая кислота и стриголактоны) и сигнальными молекулами (β -циклоцитраль, 3',4'-дидегидро-2'-апо- β -каротин-2'-аль, биксин, цитранаксантин, кроцетин и др.).

1. Транс- β -Апо-8'-каротиналь выделен из шпината и цитрусовых, используется как пищевой краситель E160e в США, странах ЕС, Австралии и Новой Зеландии. Обладает вдвое меньшей провитаминной активностью, чем β -каротин. Известно [7], что высокое содержание природного β -каротина в крови значительно снижает риск развития рака легких. В то же время в проспективных исследованиях, проведенных в Финляндии и США по влиянию β -каротина на заболеваемость раком легких у курильщиков, а также у мужчин, регулярно употреблявших алкоголь, был установлен факт повышения заболеваемости при назначении избыточных доз синтетического препарата β -каротина для профилактики онкологических заболеваний.



A



8,10'-апокаротиналь

B

Рис. 2 [5]. *A* — УФ-спектр диальдегида 8,10'-апокаротиналя; $\lambda_{\text{max}}=422$ нм, плечо $\lambda=444$ нм, что соответствует поглощению сопряженной системы, содержащей 8 двойных связей [6]; *B* — хромато-масс-спектр β -ионона ($\tau=11,5$ мин), состав молекул которого подтвержден наличием молекулярного иона $[M]^+=193$ и его фрагментацией

Одна из гипотез [2], предложенных для объяснения этого факта, основывается на прооксидантной активности β -каротина, проявляющейся в условиях высокого парциального давления кислорода. Так, при инкубации β -каротина с фракцией легочной ткани грызунов, подвергнутых воздействию табачного дыма, увеличивалось образование продуктов его эксцентрического окислительного рас-

щепления [2], и в первую очередь, транс- β -апо-8'-каротиналя, проявляющего генотоксическое и мутагенное действие, что было показано при исследовании *in vitro* на культуре клеток, в то время как сам β -каротин таким действием не обладает [7].

2. Биксин (6-гидро-6'-метил-9'-цис-6,6'-диапокаротин-6,6'-диоат) — пигмент растения аннато (*лат. Bixa Orellana*), или «помадного дерева», тропического растения Южной Америки и Азии. Биксин является неполным сложным эфиром дикарбоновой кислоты, не растворим в воде. При выделении легко изомеризуется в транс-биксин; при гидролизе образует водорастворимую дикарбоновую кислоту — норбиксин (9'-цис-6,6'-диапокаротин-6,6'-диовая кислота). Оба апокаротиноида используются в качестве пищевых природных красителей оранжево-желтого цвета: биксин — для окрашивания продуктов на масляной основе (сыров), норбиксин — молочных продуктах, напитков и морепродуктов.

3. Цитранаксантин (6'-метил-6'-апо- β -каротин-6'-он) — природный пигмент. Однако в пищевой промышленности и животноводстве в качестве добавки в корма птиц для окрашивания мяса и яиц в желтый цвет используется, главным образом, его синтетический аналог (E161i). Краситель запрещен к использованию в РФ, так как обладает токсичностью, особенно при недостаточной очистке препарата.

4. Кросетин (8,8'-диапо-8,8'-каротиндиовая кислота) — природный апокаротиноид, содержится в цветах растений рода шафран (крокуса, *лат. Crocus sativus L.*) и плодах гардении жасминовидной (*лат. Gardenia jasminoides*).

Встречается в растениях в виде сложного диэфира — кроцина (дигентиобиозил 8,8'-диапо-8,8'-каротиндиоат, дигентиобиозил кроцетин), основного действующего вещества шафрана. Апокаротиноиды шафрана обладают рядом фармакологических эффектов. Так, на культуре клеток аденокарциномы желудка (AGS) показано противораковое действие кроцина путем супрессии Bcl-2 и активации проапоптического белка Вах. Кроцетин ингибирует экспрессию генов COX-2 в клетках HeLa рака шейки матки человека; увеличивает экспрессию Вах и активирует каспазу-3 в клетках карциномы KYSE-150. Аналогичные результаты получены *in vivo* в экспериментах на крысах линии Wistar. Онкопротекторное действие описано в экспериментах на мышах, отмечается увеличение уровня интерлейкина-1 β (IL-1 β) и фактора некроза опухоли α при действии кроцетина. Противовоспалительное действие кроцина, показанное на культуре клеток макрофагов RAW264.7, осуществляется путем подавления синтеза NO синтазы и индукции синтеза

гем-оксигеназы 1. И кроцин, и кроцетин обладают нейропротекторным действием, снижают уровень активных форм кислорода в клетках PC-12 (кроцин), влияют на АОС и систему детоксикации в клетках HT22 (кроцетин) [8]. Кроцетин улучшает качество сна. Натрий транскроцетинат (INN, TSC) — один из первых экспериментальных препаратов, увеличивающих транспорт кислорода от эритроцитов к тканям, испытывающим гипоксию. Транскроцетинат натрия принадлежит к группе веществ, известных как биполярные транскаротиноидные соли, усиливающие диффузию кислорода и улучшающих оксигенацию гипоксических тканей. В настоящее время исследуется возможность использования препарата для улучшения оксигенации пациентов с COVID-19.

Учитывая наличие в клетках тканей млекопитающих большого числа альдегиддегидрогеназ, предполагается, что апокаротиноиды способны превращаться в соответствующие карбоновые кислоты (рис. 1). Установлено [3], что β -апо-14'-каротиновая кислота стимулирует дифференциацию лейкемических клеток U937, в то время, как β -апо-12'-каротиновая кислота ингибирует пролиферацию клеток HL-60. Кроме того, показано, что обе эти кислоты ингибируют рост клеток рака груди. Исследовано действие различных апокаротиноидов (альдегидов, кетонов и кислот) на сигнальный путь RXR α . Ни один из исследованных β -апокаротиноидов не активирует рецептор RXR α , а β -апо-13-каротинон является антагонистом 9-цис-ретиноевой кислотой при активации этого рецептора при концентрации ~1 нмоль/л (табл. 1).

Таблица 1. β -Апокаротиноиды — антагонисты рецептора RXR α [5]

Соединение	% активации RXRα
β -циклоцитраль	83
β -циклогераниевая кислота	93
β -ионон	83
β -ионилиденацетальдегид	88
β -апо-8-каротинон	8
ретиаль	32
β -апо-14'-каротиналь	76
β -апо-12'-каротиналь	69
β -апо-8'-каротиналь (а)	74

Приведена активация рецептора 9-цис-ретиноевой кислотой в присутствии β -апокаротиноидов в процентах от активации без β -апокаротиноидов. Связывание β -апо-13-каротинона с рецептором RXR α подтверждено молекулярным моделированием. Показано

также, что он является антагонистом всех 3 типов рецепторов ретиноевой кислоты RAR (RAR α , RAR β и RAR γ) (рис. 3), связываясь с рецепторами с тем же сродством, что и транс-ретиноевая кислота. β -Апо-14'-каротиналь и β -апо-14'-каротиновая кислота также связываются с RAR, но обладают меньшим сродством. Все три апокаротиноида ингибируют индуцируемую ретиноевой кислотой экспрессию генов для RAR β и CYP26A1 в культуре клеток гепатомы человека (см. рис. 3).

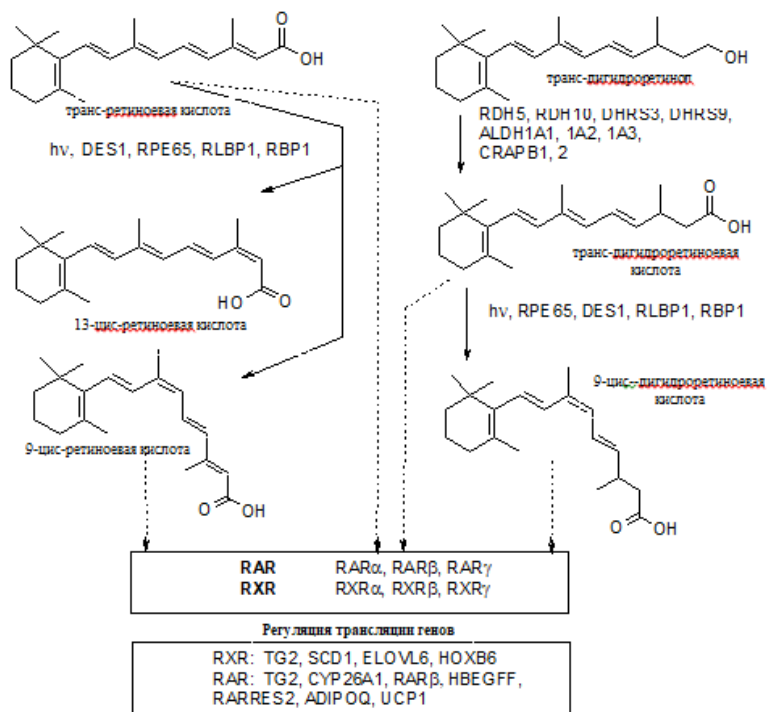


Рис. 3. Белки-рецепторы и гены, вовлеченные в метаболизм каротиноидов [9]

Таким образом, апокаротиноиды являются метаболитами, выполняющими важнейшие биологические функции в клетках растений, микроорганизмов, высших животных и человека, выступая в роли физиологически важных сигнальных молекул, природных пигментов и летучих ароматических соединений.

Список литературы

1. Дадали В.А., Тутельян В.А., Дадали Ю.В., Кравченко Л.В. Каротиноиды. Биодоступность, биотрансформация, антиоксидантные свойства // Вопросы питания. 2010. Т. 79, № 2. С. 4-18.
2. Дадали В.А., Тутельян В.А., Дадали Ю.В., Кравченко Л.В. Каротиноиды. Биологическая активность // Вопросы питания. 2011. Т. 80. № 4. С. 4-18.
3. Harrison E.H., Sena C., Eroglu A., Fleshman M.K. The formation, occurrence, and function of b-apocarotenoids: β -carotene metabolites that may modulate nuclear receptor signaling // *Am. J. Clin. Nutr.* 2012 Nov; 96(5): 1189S-1192S. doi: 10.3945/ajcn.112.034843.Epub 2012 Oct 10].
4. Marasco E.K., Vay K., Schmidt-Dannert C. Identification of carotenoid cleavage dioxygenases from *Nostoc* sp. PCC7120 with different cleavage activities // *The journal of biological chemistry.* 2006. Vol. 281, № 42, pp. 31583-31593.
5. Eroglu A, Hruszkewycz D.P., Robert W. Curley Jr. R.W., Harrison E.H. The eccentric cleavage product of β -carotene, β -apo-13-carotenone, functions as an antagonist of RXR α // *Arch Biochem Biophys.* 2010, 504(1): 11–16. doi:10.1016/j.abb.2010.07.025
6. 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: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции 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
7. Seba M.C., Anatt Treesa Mathew, Sheeja Rekha, Prasobh G R. Apocarotenoids: A Brief Review. *International Journal of Research and Review.* Vol. 7; Issue: 12; pp. 252-256.
8. Baba S.A., Ashraf N. Apocarotenoids of *Crocus sativus* L.: From biosynthesis to pharmacology. 2016. Springer Briefs in Plant Science, DOI 10.1007/978-981-10-1899-2_1.
9. Bohn T., Desmarchelier C., Sedef N. El., Keijer J., Schothorst E., Rühl R., Borel P. β -Carotene in the human body: metabolic bioactivation pathways — from digestion to tissue distribution and excretion *Proceedings of the Nutrition Society* (2019), 78, 68–87.

**СИНТЕЗ И ПРОГНОЗИРУЕМЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
2-АМИНО-6-[(2-ЦИАНОЭТИЛ)СЕЛАНИЛ]-4-ФЕНИЛПИРИДИН-
3,5-ДИКАРБОНИТРИЛА**

Многокомпонентной конденсацией, состоящей из бензальдегида, цианоселеноацетамида, N-метилморфолина, малононитрила и акрилонитрила, синтезирован ранее неизвестный 2-амино-6-[(2-цианоэтил)селанил]-4-фенилпиридин-3,5-дикарбонитрил, потенциальная биологическая активность которого определена по программе PASS.

Ключевые слова: бензальдегид, цианоселеноацетамид, N-метилморфолин, малононитрил, акрилонитрил, многокомпонентная конденсация, биологическая активность.

Dyachenko I.V.

Lugansk State Pedagogical University, Lugansk

**SYNTHESIS AND PREDICTED BIOLOGICAL PROPERTIES OF 2-AMINO-
6-[(2-CYANOETHYL)SELANYL]-4-PHENYLPYRIDINE-3,5-
DICARBONITRILE**

A previously unknown 2-amino-6-[(2-cyanoethyl)selanyl]-4-phenylpyridine-3,5-dicarbonitrile was synthesized by multicomponent condensation consisting of benzaldehyde, cyanoselenoacetamide, N-methylmorpholine, malononitrile and acrylonitrile, the potential biological activity of which was determined under the PASS program.

Key words: benzaldehyde, cyanoselenoacetamide, N-methylmorpholine, malononitrile, acrylonitrile, N-methylmorpholine, multicomponent condensation, biological activity.

Среди селенсодержащих гетероциклических соединений обнаружены противомикробная [1], противогрибковая [2], антиоксидантная [3] и противоопухолевая [4] активности. Они пригодны для лечения ишемических повреждений миокарда [5], ингибирования энзимов [6] и ВИЧ [7].

В продолжение исследований по химии селенсодержащих гетероциклических соединений [8, 9] нами исследована многокомпонентная конденсация, состоящая из бензальдегида **1**, цианоселеноацетамида **2**, N-метилморфолина **3**, малононитрила **4** и акрилонитрила **5**. Установлено, продуктом данной реакции, протекающей в

абсолютном этаноле под аргоном, является 2-амино-6-[(2-цианоэтил)селанил]-4-фенилпиридин-3,5-дикарбонитрил **6** (схема 1).

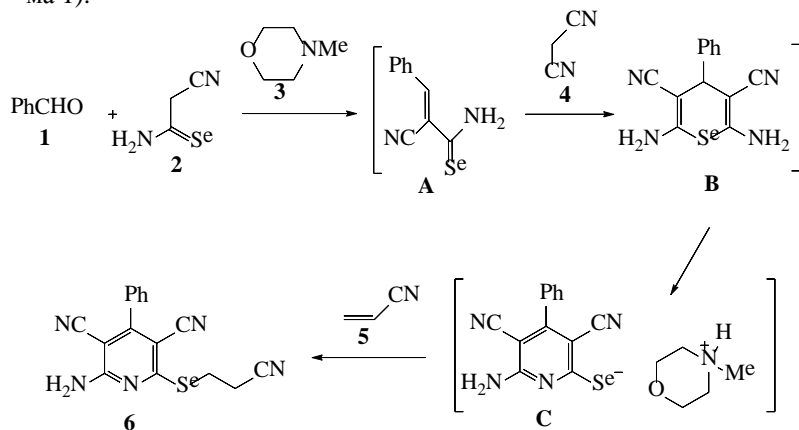


Схема 1

Вероятный механизм реакции состоит из следующих стадий: конденсация бензальдегида **1** с цианоселеноацетамидом **2** в абсолютном этаноле при 20°C в присутствии *N*-метилморфолина **3** в качестве катализатора приводит к алкену Кнёвенагеля **A**, к которому по Михаэлю присоединяется СН-кислота **4**. Возникающий при этом соответствующий аддукт не стабилен в данных условиях и легко внутримолекулярно циклизуется в замещенный селенопиран **B**. Затем происходит рециклизация последнего в соль **C**, региоселективное цианэтилирование которой акрилонитрилом **5** приводит к образованию конечной структуры — селеноэфира **6**.

Учитывая актуальность создания новых медицинских препаратов, мы спрогнозировали с помощью компьютерной программы PASS (Prediction of Activity of Spectra for Substance) [10] целевую и нежелательную активность синтезированного вещества **6** (табл. 1). По данным виртуального скрининга 2-амино-6-[(2-цианоэтил)селанил]-4-фенилпиридин-3,5-дикарбонитрил имеет достаточно высокую вероятность ($P_a > 0,7$) проявления биологической активности при: лечении рассеянного склероза ($P_a = 0,951$), лечении аутоиммунных заболеваний ($P_a = 0,934$) и возможно проявление химиопротекторного эффекта ($P_a = 0,703$). А также данное соединение, возможно, использовать ($0,5 < P_a < 0,7$) при лечении алопеции ($P_a = 0,666$), как противоопухолевый ($P_a = 0,557$) и противовирусный (гепатит В) ($P_a = 0,513$) препарат. По результатам полу-

ченных данных можно сделать вывод о перспективности дальнейшего всестороннего биологического изучения селенсодержащих пиридинов данного типа.

Таблица 1. Данные виртуального скрининга 2-амино-6-[(2-цианоэтил)селанил]-4-фенилпиридин-3,5-дикарбонитрила **6** ($P_a > 0.5$)

P_a	P_i	Активность
0,951	0,003	Multiple sclerosis treatment
0,934	0,004	Autoimmune disorders treatment
0,703	0,003	Chemoprotective
0,666	0,009	Alopecia treatment
0,513	0,004	Antiviral (Hepatitis B)
0,557	0,055	Antineoplastic
0,526	0,126	Aspulinone dimethylallyltransferase inhibitor

Примечание: P_a — вероятность наличия активности; P_i — вероятность отсутствия активности.

Экспериментальная часть

ИК спектр получали на приборе ИКС-40 в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали на спектрофотометре Bruker (400 и 100 МГц соответственно) в растворах DMSO- d_6 , внутренний стандарт — ТМС. Масс-спектр получали на масс-спектрометре высокого разрешения Orbitrap Elite. Образец для HRMS растворяли в 1 мл DMSO, разбавляли в 100 раз 1%-ной HCOOH в CH_3CN , вводили шприцевым насосом со скоростью 40 мкл/мин в источник ионизации электрораспылением. Потоки газов источника были отключены, напряжение на игле составляло 3.5 кВ, температура капилляра 275°C. Масс-спектр регистрировали в режимах положительных и отрицательных ионов в орбитальной ловушке с разрешением 480000. Внутренние калибранты — ион 2DMSO+ H^+ (m/z 157.03515) в положительных ионах и додецилсульфат-анион (m/z 265.14789) в отрицательных ионах. Элементный анализ осуществляли на приборе Perkin Elmer CHN-analyser. Температуру плавления определяли на блоке Кофлера. Ход реакции и чистоту полученного соединения контролировали методом ТСХ на пластинке Silufol UV-254 в системе ацетон-гексан (3:5), проявление парами йода и УФ-облучением.

2-Амино-6-[(2-цианоэтил)селанил]-4-фенилпиридин-3,5-дикарбонитрил 6. К перемешиваемому раствору 1.0 мл (10 ммоль) бензальдегида **1** в 25 мл абсолютного этанола под аргоном при 20°C прибавляли 1.47 г (10 ммоль) цианоселеноацетамида **2** и 3 капли *N*-

метилморфолина **3**, перемешивали 10 мин до начала кристаллизации бензилиденцианоселеноацетамида **A** и прибавляли 0.66 г (10 ммоль) малононитрила **4**. Затем смесь перемешивали 25 мин до наступления гомогенной фазы раствора, после чего оставляли на 24 ч. Далее к реакционной смеси прибавляли 1.1 мл (10 ммоль) *N*-метилморфолина **3** и кипятили с обратным холодильником под аргоном 4 ч, прибавляли 0.66 мл (10 ммоль) акрилонитрила **5** и продолжали кипячение ещё 2 ч. После остывания до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли равным объемом воды и отфильтровывали образовавшийся осадок. Промывали последовательно водой, этанолом и гексаном. Выход 2.9 г (81%), желтый порошок, т.пл. 246–248°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3411, 3342, 3195 (NH₂), 2248, 2219 (C≡N), 1646 (δ NH₂). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 3.06 т (2H, SeCH₂, *J* 7.0 Гц), 3.41 т (2H, CH₂CN, *J* 7.0 Гц), 6.76–6.83 м (2H, H_{аром.}), 7.42 д (2H, H_{аром.}, *J* 8.2 Гц), 8.10 д (1H, H_{аром.}, *J* 8.2 Гц), 8.24 уш. с (2H, NH₂). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м.д.: 18.1, 21.4, 82.1, 93.3, 113.0 (2C), 115.7, 116.4 (2C), 119.9, 143.2, 145.0, 146.7, 146.8, 160.3, 165.6. Масс-спектр, *m/z*: найдено 354.8423 [*M*+H]⁺. C₁₆H₁₁N₅Se. Вычислено 354.0180.

Список литературы

1. Wojtowich H., Kloc K., Maliszewska I., Mlochowski J., Pietka M., Piasecki E. Azqanalogues of Ebselenvas Antimicrobial and Antiviral Agents: Synthesis and Properties // *Farmaco*. 2004. Vol. 59(11). P. 863–868.
2. Ryu C.-K., Han J.-Y., Jung O.-I., Lee S.K., Lee J.Y., Jeong S.H. Synthesis and Antifungal Activity of Noble 5-Arylamino- and 6-Arylthio-4,7-dioxobenzoselenazoles // *Bioorganic medicinal Chemistry letters*. 2005. Vol. 15(3). P. 679–682.
3. Khmil N.V., Mosencov A.A., Ovsyannikova T.N., Dyachenko V.D., Goncharenko M.S., Kolomytkin O.V., Mironova G.D. Influence of organoselenium compounds on functioning of rat liver mitochondria // *Materials of International Symposium «Biological motility»*. Pushchino: SYNCHRO-BOOK. 2016. P. 96–100.
4. Aglu M.E., Gedawy E.M., El-Malah A.A., El-Telbany F.A. Синтез и противоопухолевая активность некоторых производных селена // *Журнал органической химии*. 2019. Т. 55(8). С. 1307.
5. Wang X., Gou Z., Lu J., Chu F., Pan Y., Wang L. The use of benzi-selenazolone compounds against ischemic myocardial damage // *Записка 1541145 ЕПВ. РЖХим*. 2006. 06.14-190.119П.
6. Koketsu M., Choi S.Y., Ishihara H., Lim B.O., Kim H., Kim S.Y. Inhibitory effect of 1,3-selenazol-4-one derivatives on mushroom tyro-

sinase // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2002. Vol. 50(12). P. 1594–1596.

7. Chu C.K., Ma L., Olgen S., Pierra C., Du I., Gumina G., Gul-len E., Chen Y.-C., Schinazi R.F. Synthesis and antiviral activity of oxaselenolane nucleosides // Journal of Medicinal Chemistry. 2000. Vol. 43(21). P. 3906–3912.

8. Дяченко И.В., Дяченко В.Д., Абакаров Г.М., Ненайденко В.Г. Новые производные селенамидоуксусной кислоты для синтеза функционально замещенных селеназолов // Журнал органической химии. 2021. Т. 57(7). С. 1047–1050.

9. Дяченко И.В., Дяченко В.Д. Новый синтетический путь к замещенным 2-алкилсульфанил-4,6-диарил(гетерил)-1,4-дигидропиридин-, пиридин- и тиено[2,3-*b*]пиридин-3-карбонитрилам // Журнал органической химии. 2015. Том 51(5). С. 650–655.

10. Филимонов Д.А., Лагунин А.А., Глориозова Т.А., Рудик А.В., Дружиловский Д.С., Погодин П.В., Поройков В.В. Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASS online // Химия гетероциклических соединений. 2014. № 3. С. 483–499.

УДК 541.49.183:546.562.723:547.854.5

Кременевская М.И.¹, Чухно А.С.², Шерстнев В.В.³

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО»

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России
Санкт-Петербург

¹*marianna_kremenevskaya@mail.ru*, ²*alex-chuhno@yandex.ru*,
³*friend-rus77@yandex.ru*

СИНТЕЗ БЕЛКОВО-ПОРИСТОЙ СИСТЕМЫ МЕТОДОМ КРИОГЕЛЕОБРАЗОВАНИЯ НА ОСНОВЕ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

Показана возможность синтеза губчатых альбуминовых гелей методом криогенного гелеобразования, и принципиальная возможность их использования в качестве биodeградируемой основы для биологически активных веществ или в качестве матрицы для выращивания культур клеток и тканей для дальнейшей трансплантации в живой организм.

Ключевые слова: гелеобразование белков, биodeградируемая матрица, субстрат для цитологических культур.

Kremenevskaya M.I.¹, Chukhno A.S.², Sherstnev V.V.³

^{1,3}National Research Saint Petersburg State University of Information Technologies, Mechanics and Optics, St. Petersburg

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
St. Petersburg

SYNTHESIS OF A PROTEIN-POROUS SYSTEM BY CRYOGELATION BASED ON BOVINE SERUM ALBUMIN

The possibility of obtaining spongy albumin gels by cryogenic gelation is shown, and the fundamental possibility of their use as a biodegradable carrier base for various biologically active substances or as a matrix for growing cell and tissue cultures for further transplantation into a living organism.

Key words: protein gelation, biodegradable matrix, substrate for cytological cultures.

Введение. Разработка биосовместимых нетоксичных полимеров, обеспечивающих направленный, пролонгированный транспорт лекарственных веществ с их выделением непосредственно в очаге поражения, минуя желудочно-кишечный тракт и печень (где они могут частично инактивироваться и оказывают токсическое действие), остается актуальной задачей, не менее важной, чем разработка и синтез самого действующего лекарственного вещества.

На основе альбумина (в частности, бычьего сывороточного альбумина, или БСА), можно получать гели, имеющие макропористую структуру, в том числе и медицинского назначения.

В процессе исследования было сделано предположение, что можно создать нетоксичный белковый полимер, если сначала развернуть все глобулы исходного белка (БСА), используя такие известные, безопасные и доступные вещества, как ацетилцистеин (АЦЦ) и мочевины (карбамид); кроме того, прогреть полученную реакционную смесь на водяной бане, — это еще больше «развернет» глобулы БСА и сделает реакционную смесь более концентрированной вследствие выпаривания воды и увеличит вязкость раствора. По мере продолжения нагревания денатурация БСА вызовет экспонирование слишком большого количества гидрофобных участков белка, а взаимодействия открытых гидрофобных участков, которые нестабильны в водной среде, приведет к агрегации белковых молекул с образованием геля.

В научной литературе описано, что при температуре 65°C, 70°C и 75°C мономер и димер еще присутствует в растворе, но уже начинают формироваться более крупные агрегаты диаметром 15, 17

и 22 нм соответственно [6]. При температуре 80°C димер полностью перестает существовать, а мономер еще присутствует, при этом средний диаметр агрегатов составляет около 28 нм. При повышении концентрации белка увеличивается и размер агрегатов, при этом образуется белковый гель [9].

Последующее погружение реакционной смеси в камеру криостата, — ее замораживание, — должно привести к усилению взаимодействия между отдельными частицами и в результате должен образоваться белковый гель: за счет сил когезии и за счет образования между молекулами БСА дисульфидных химических связей, — S-S-сшивок, за счет присутствия в реакционной смеси ацетилцистеина, обладающего сильными восстановительными свойствами. Таким образом, диффузия ацетилцистеина к внутримолекулярным SS-связям внутри глобулы бычьего сывороточного альбумина должна проходить легче [6].

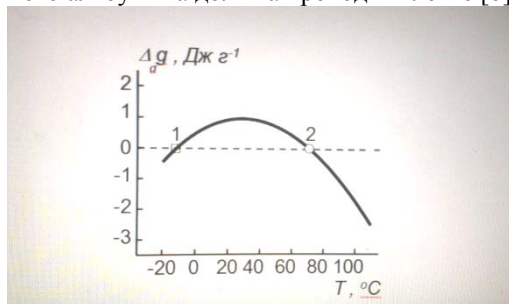


Рис. 1. Температурная зависимость свободной энергии денатурации БСА при pH 7,4 (20 мМ имидазольный буфер, 0,15 М NaCl): точка 1 — точка холодной денатурации ($T_1 = -12^\circ\text{C}$); точка 2 — точка тепловой денатурации ($T_2 = 71^\circ\text{C}$) [9]

Представленная кривая наглядно показывает необходимые условия гелеобразования БСА (при pH 7,4), — гелеобразование начинается при температурах ниже -12°C (точка $T_1 = -12^\circ\text{C}$), а также, выше 71°C (точка $T_2 = 71^\circ\text{C}$).

В результате такого комбинированного воздействия происходит межмолекулярная сшивка: формируются узлы полимерной структуры криогеля, включающие внутримолекулярные S-S-связи, встроенные в участки микросреды, более гидрофобной относительно других сегментов сольватированных в водной среде полипептидных цепей [9]. Поликристаллы замерзшего растворителя, — воды, выполняют в криогеле роль порогена, — от него будет зависеть пористость полученного белкового геля.

Экспериментальная часть

Цель исследования: зная механизм гелеобразования, получить белково-пористую систему методом криогелеобразования.

Задачи, решаемые в ходе исследования:

1. Определить состав и соотношение компонентов матрицы белково-пористой системы.
2. Установить условия устойчивости матрицы белково-пористой системы (рН среды, температура образования и время выдержки реакционной смеси в хладагенте камеры криостата; определить размеры белковых глобул). Только при этих условиях система будет устойчива.
3. Охарактеризовать строение и свойства новой белково-пористой системы.

Материалы и методы. Были использованы: бычий сывороточный альбумин (БСА), (BSA — Product number A2153, Fraction V, Sigma — Aldrich Company Ltd, Gillingham, UK). Растворы БСА 10 г/л получали медленным растворением лиофилизированного белка в дистиллированной воде. Мочевина ($\geq 99,5\%$), ацетилцистеин ($\geq 99,5\%$), дистиллированная вода.

Применялись методы рН-метрии, кондуктометрии, световой микроскопии; термометрия с использованием хромель-копелевой термопары.

Необходимые расчеты. Известно, что средняя молярная масса нативного БСА при комнатной температуре составляет $6,6 \times 10^4$ г/моль, гидродинамический диаметр молекулы равен примерно 7 нм [5].

Чтобы рассчитать компоненты реакционной смеси следует исходить из состава молекулы БСА. Молярная концентрация БСА в его растворе с концентрацией 100 мг/мл составляет 1,44 ммоль/л, а общая концентрация остатков цистеина в нем составляет около 50,4 ммоль/л. Таким образом, концентрация SS-связей составляет в нем 25,2 ммоль/л, а количество свободных SH-групп составляет примерно 1,44 ммоль/л, соответственно.

Следовательно, для приготовления исходного раствора для синтеза БСА-криогеля, молярное соотношение свободных SH-групп и растворенного ацетилцистеина должно быть близко к эквимольному, но не более, иначе получится не гель, а более твердая структура, — криоструктурат.

Ацетилцистеин (N-ацетил-L-цистеин, NAC) — $C_5H_9NO_3S$, Молярная масса — 163,19 г/моль. Для полного насыщения S-S связями свободных SH-групп в водном растворе БСА потребуется не более 1,44 ммоль ацетилцистеина, или $163,19 \times 0,0144 = 2,35$ г. В дан-

ном случае, было взято 1,2 г АЦЦ, то есть ацетилцистеин был взят в недостатке (50%). Карбамид (мочевина) — $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, — молярная масса — 60,07 г/моль, необходим в качестве денатурирующего агента, его присутствие необходимо, но концентрированные растворы карбамида хуже замерзают, ввиду криоскопического эффекта, и, ухудшают механические свойства полученного криогеля. Концентрация карбамида, необходимая для практически полной денатурации глобул БСА в растворах превышает 5 моль/л. Но такие условия в полной мере здесь не требуются. Карбамида брали 6 г, то есть 0,1 моль. Кроме того, карбамид, помимо денатурации, будет при гидролизе создавать в реакционной смеси слабокислую среду с $\text{pH}=5,5$. Этот показатель близок к изоэлектрической точке БСА ($\text{pH}=4,7$), что будет способствовать устойчивости геля во внешних условиях [15]. Зная эти свойства, была использована именно эта концентрация, найденная опытным путем.

Методика проведения экспериментов. Две навески сухого БСА массой 500 мг растворяли в двух стаканчиках по 50 мл дистиллированной воды в каждом. К полученному раствору добавляли по 600 мг ацетилцистеина в каждый стаканчик, перемешивали с использованием магнитной мешалки до полного растворения ацетилцистеина. Полученные растворы сливали в одну фарфоровую чашку, затем прогревали и упаривали на водяной бане на 50% по объему. К упаренному раствору добавляли водный раствор мочевины (6 г карбамида, растворенного в 20 мл дистиллированной воды).

Раствор перемешивали стеклянной палочкой и повторно упаривали на водяной бане до 10 мл. Приготовленную таким образом реакционную систему порциями по 5 мл набирали в два 5-миллилитровых пластиковых шприца, которые герметизировали колпачками, охлаждали в водной среде, при температуре + 4 градуса Цельсия, а затем помещали в хладагент камеры жидкостного криостата (96% спирт), с температурой (от -20 до -25 °C), где выдерживали в течение 20–24 часов в строго вертикальном положении.

Этиловый спирт 96% был взят в качестве теплоемкой, незамерзающей до низкой температуры в несколько десятков градусов, жидкости, (удельная теплоемкость этанола=2390 Дж/(кг*К), а температура замерзания 96% этанола=— 114° C).

После этого шприцы размораживали при комнатной температуре, разбирали, а затем, полученный образец извлекали из шприца. Он представлял собой однородную полупрозрачную вязкопластическую систему, устойчивую во внешней среде.

Результаты и их обсуждение. Полученный образец криогеля БСА устойчив во внешних условиях, — сохраняет форму, эластичный и липкий на ощупь (обладает прекрасной адгезией).

При изучении под световым микроскопом полученного образца было видно, что микроструктура полученного альбуминового геля (ув. 16×100), — состоит из массы мелких шариков, между которыми имеется свободное пространство, — т.е. полученный гель имеет глобулярную пористую структуру.

Авторы выражают благодарность за неоценимую помощь в работе доктору медицинских наук, профессору, заведующему кафедрой естественнонаучных дисциплин Санкт-Петербургского медуниверситета Александру Герасимовичу Шлейкину.

Выводы

1. Разработана технология получения нового криогеля на основе БСА.

2. Определено, что для синтеза белково-пористого геля необходимо, оптимальное соотношение реагентов: количество молей АЦЦ не должно превышать количество молей БСА, — лучше, если даже будет 50% недостаток; количество молей карбамида — в 10 раз меньше, чем было взято БСА. Выявлено, что использование метода криогенного гелеобразования позволяет получить криогель на основе БСА при температуре хладагента от -20 до -25°C в течение 20–24 часов.

3. Установлено, что полученная белково-пористая система состоит из массы мелких шариков-глобул, между которыми есть свободное пространство; что устойчивость матрицы белково-пористой системы достигается при $\text{pH}=5,5$ — слабокислое значение, близкое к показателю изоэлектрической точки БСА [15], которое, в свою очередь, достигается в результате гидролиза мочевины, входящей в состав реакционной смеси [10].

Список литературы

1. Вайнерман Е.С., Лозинский В.И., Рогожин С.В., Раскина Л.П., Шапиро Л.А., Якубович В.С., Бронштейн Б.Ю. Способ получения пористого альгинатного материала // А.с. СССР № 11 (1983); Б.И. № 29, 1985.

2. Дмитриева И.Б., Кергенцев А.А., Чухно А.С. Определение констант диссоциации карбоксильных и аминогрупп на альбумине методом потенциометрического титрования // Бултеровские сообщения. 2015. Т. 41. № 3. С. 141–146.

3. Курганов Б.И. Кинетика тепловой агрегации белков // Биохимия. 1998. 432 с.

4. Лозинский В.И. Криогели на основе природных и синтетических полимеров: получение, свойства и области применения // Усп. хим. 2002. Т. 71. № 6. С. 59-85.

5. Лозинский В.И. Новое семейство макропористых и сверхмакропористых материалов биотехнологического назначения — полимерные криогели // Известия РАН. Сер. хим. 2008. Т. 5. С. 96-101.

6. Лозинский В.И., В.К. Кулакова В.К., Петренко А.Ю., Петренко Ю.А., Ершов А.Г., Суханов Ю.В. Пат. РФ № 2594427 // Композиция для формирования макропористого носителя, используемого при трехмерном культивировании клеток животных или человека, и способ получения указанного носителя. 2015. 28 С.

7. Любарев А.Е., Курганов Б.И. Изучение необратимой тепловой денатурации белков методом дифференциальной сканирующей калориметрии // Усп. биол. хим. 2000. Т. 40. С. 43-84.

8. Маркосян К.А., Курганов Б.И. Фолдинг, неправильный фолдинг и агрегация белков. Образование телец включения // Биохимия. 2004. Т. 69. С. 196-212.

9. Родионов И. А. диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук, тема: «Криогели на основе сывороточного альбумина: синтез, свойства, структура и возможности биомедицинского применения», научный руководитель: доктор химических наук, профессор В.И. Лозинский, Москва, 2017.

10. Романенко М.С., Шерстнев В.В. Кинетика гелеобразования белков (на модельной системе — бычий сывороточный альбумин). Мечниковские чтения-2020. Материалы 93-й Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. Министерство здравоохранения Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования, Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2020 г. С. 81.

11. Сергеев Г.Б., Батюк В.А. Реакции в многокомпонентных замороженных системах // Усп. химии. 1976. Т. 45. № 5. С. 79-82.

12. Сердюк И., Заккаи Н., Заккаи Дж. Методы в молекулярной биофизике: структура, функция, динамика. Москва: КДУ, 2010. Т.1. С. 1–6.

13. Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Банкина А.Н., Бриллиантова Е.Ю. Изучение взаимодействия белков с биологически активными азотсодержащими гетероциклическими соединениями при различных значениях рН Бутлеровские сообщения. 2013. Т. 34. № 5. С. 91-99.

14. Чухно А.С., Банкина А.Н., Бриллиантова Е.Ю. Кинетика процесса набухания желатины в водных растворах азолов. Бутлеровские сообщения. 2014. Т. 38. № 5. С. 84–88.

15. Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Мартынов Д.В. Изоэлектрическая точка белков в водных растворах азолов. Вестник Санкт-Петербургского университета. Физика и химия. 2011. № 2. С. 124-133.

16. Финкельштейн А. В., Птицын О. Б // Физика белка. М.: КДУ. 2005. С. 138–146.

УДК 547.822.7 + 547.233.1 + 547.281.1

**Курскова А.О.¹, Доценко В.В.^{2,3}, Фролов К.А.^{1,4},
Кривоколыско С.Г.^{1,4}**

¹Лаборатория «ХимЭкс», Луганский государственный университет имени Владимира Даля
Луганск

²Кубанский государственный университет
Краснодар

³Северо-Кавказский федеральный университет
Ставрополь

⁴Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки
Луганск

kursanna120293@gmail.com

СИНТЕЗ N-МЕТИЛМОРФОЛИНЕВОЙ СОЛИ 2-АМИНО-4-(2-ХЛОРФЕНИЛ)-6-(ДИЦИАНОМЕТИЛ)-1,4-ДИГИДРОПИРИДИН-3,5-ДИКАРБОНИТРИЛА И ЕЕ АМИНОМЕТИЛИРОВАНИЕ

При взаимодействии 2-хлорбензальдегида, цианотиоацетамида и 2-аминопропен-1,1,3-трикарбонитрила с избытком N-метилморфолина в этаноле получена соль 2-амино-4-(2-хлорфенил)-6-(дицианометил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбонитрила, которая образует замещенные 2-алкиламино-4-(дицианометил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нон-2-ен-1,5-дикарбонитрилы в реакции аминометилирования с первичными аминами и избытком формальдегида.

Ключевые слова: 2-хлорбензальдегид, цианотиоацетамид, 2-аминопропен-1,1,3-трикарбонитрил, аминометилирование, 2-алкиламино-4-(дицианометил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нон-2-ен-1,5-дикарбонитрилы.

*Kurskova A.O.¹, Dotsenko V.V.^{2,3}, Frolov K.A.^{1,4},
Krivokolysko S.G.^{1,4}*

¹Laboratory "ChemEx", V. Dal Lugansk State University
Lugansk

²Kuban State University
Krasnodar

³North Caucasus Federal University
Stavropol

⁴St. Luke Lugansk State Medical University
Lugansk

SYNTHESIS OF N-METHYLMORPHOLINIUM SALT 2-AMINO-4-(2- CHLOROPHENYL)-6-(DICYANOMETHYL)-1,4-DIHYDROPYRIDINE- 3,5-DICARBONITRILE AND ITS AMINOMETHYLATION

The reaction of 2-chlorobenzaldehyde, cyanothioacetamide and 2-aminopropene-1,1,3-tricarbonitrile with an excess of N-methylmorpholine in ethanol gave the salt 2-amino-4-(2-chlorophenyl)-6-(dicyanomethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile, which forms substituted 2-alkylamino-4-(dicyanomethylene)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]non-2-ene-1,5-dicarbonitriles in the aminomethylation reaction with primary amines and excess formaldehyde.

Key words: 2-chlorobenzaldehyde, cyanothioacetamide, 2-aminopropene-1,1,3-tricarbonitrile, aminomethylation, 2-alkylamino-4-(dicyanomethylene)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]non-2-ene-1,5-dicarbonitriles.

4-R-2-амино-6-(дицианометил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбонитрилы и их соли являются малочисленной группой гетероциклических соединений, что может быть связано с неустойчивостью 1,4-дигидропиридиновой системы к процессам окисления, приводящим к образованию их дегидрированных аналогов [1, 2].

Так, нами было изучено последовательное взаимодействие 2-хлорбензальдегида, цианотиоацетамида и димера малонитрила в EtOH в присутствии избытка *N*-метилморфолина при 20 °С с образованием *N*-метилморфолиниевой соли 2-амино-4-(2-хлорфенил)-6-(дицианометил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбонитрила (**1**) с выходом 68% (рис. 1).

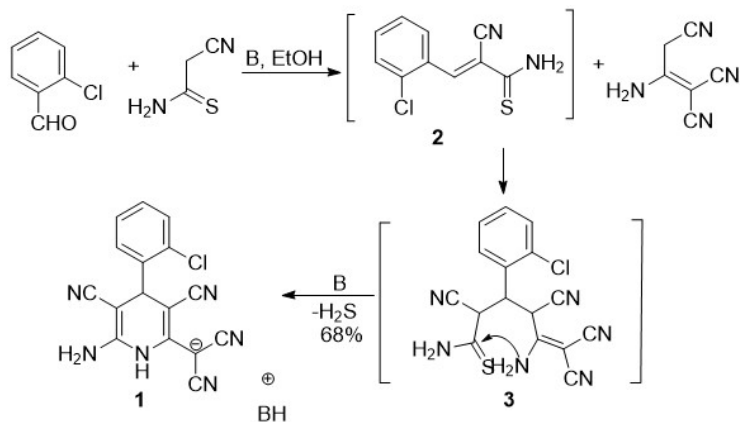


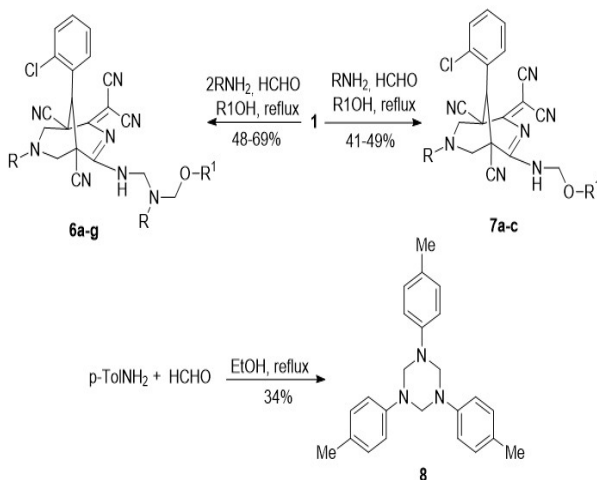
Рис. 1. Синтез *N*-метилморфолиниевой соли **1**

При кратковременном кипячении соли **1**, двукратного или эквивалентного количества алифатических или ароматических первичных аминов и избытка 37%-ного формалина в спиртах — MeOH, EtOH, PrOH, *i*-PrOH, BuOH, были получены замещенные 2-алкиламино-4-(дицианометилен)-3,7-диазабicyclo[3.3.1]нон-2-ен-1,5-дикарбонитрилы **6** и **7** с выходами 41-69% (рис. 2).

Показано, что в каждом из случаев процесс начинается с аминометилирования по положениям 3 и 5 соединения **1** с формированием 3,7-диазабicyclo[3.3.1]нон-2-еновой системы, после чего, при наличии в реакционной смеси амина, происходит алкоксиаминометилирование экзоциклического атома азота с образованием производных **6**; возможно, сильное электроноакцепторное влияние дицианометиленового фрагмента понижает нуклефильность сопряженного эндоциклического атома азота таких соединений, и ожидаемого замыкания 1,3,5-триазинового цикла не наблюдается. На этот процесс не оказывают влияние ни природа используемых аминов, ни выбранных растворителей. В случае соединений **7** после формирования бициклической системы реакция останавливается на стадии алкоксиметилирования аминогруппы.

При использовании в этих реакциях *para*-толуидина и этанола был выделен известный продукт его взаимодействия с формальдегидом — 1,3,5-три(4-метилфенил)-1,3,5-триазиан (**8**), с выходом 34% [3, 4].

Можно утверждать, что соль **1** не оказывает никакого влияния на этот процесс, поскольку при отсутствии катализаторов в этаноле соединение **8** образуется с относимым выходом 36%, при наличии катализаторов — H_2SO_4 , пиридина, Et_3N , его выходы достигают 85% [4].



R = Me, R1 = Et (**6a**); Me, Pr (**6b**); 2-Fr, Et (**6c**); 2-Fr, Me (**6d**); 2-Fr, Bu (**6e**), Ph, Et (**6f**); i-Pr, Et (**6g**); Me, Et (**7a**); Me, i-Pr (**7b**); i-Pr, i-Pr (**7c**)

Рис. 2. Аминометилирование соли **1**

Строение соединений **6-8** было установлено с привлечением методов масс-спектропии и ЯМР-спектропии на ядрах ^1H и ^{13}C (DEPTQ), а также ИК-спектрофотометрии. Помимо этого, соединения **6c** и **8** были изучены с привлечением метода рентгеноструктурного анализа.

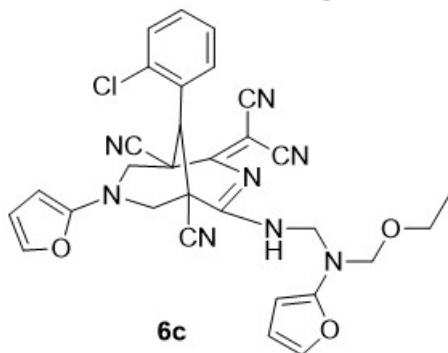
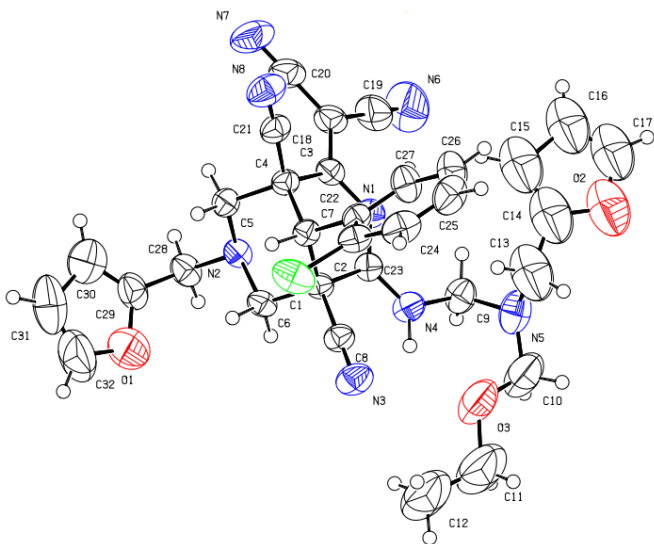


Рис. 3. РСА соединения **6c**

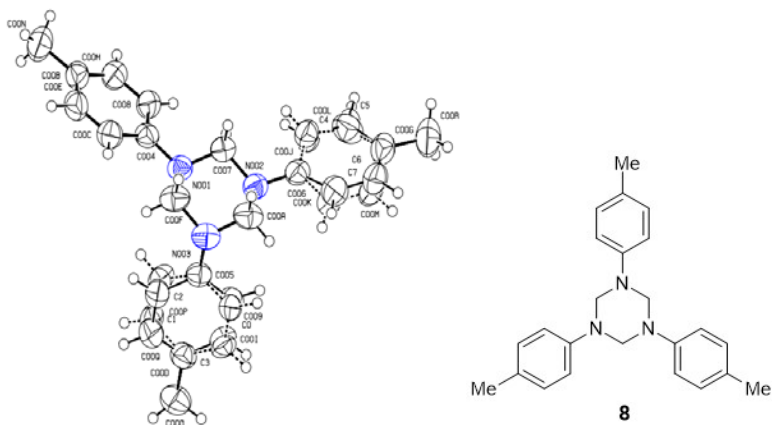


Рис. 4. PCA соединения **8**

Список литературы

1. Fuentes L., Vaquero J.J., Soto J.L. / Synthesis of Heterocyclic Compounds, XXIII. Pyridines from Malononitrile Dimer and Benzylidenemalononitriles // Synthesis. 1982. Vol. 04. P. 320–322.
2. Helmy N.M., El-Baih F.E.M., Al-Alshaikh M.A., Moustafa M.S. / A Route to Dicyanomethylene Pyridines and Substituted Benzonitriles Utilizing Malononitrile Dimer as a Precursor // Molecules. 2011. Vol. 16(1). P. 298–306.
3. Dotsenko V.V., Frolov K.A., Krivokolysko S.G. (2012). / Mannich reaction in the synthesis of N,S-containing heterocycles. 13*. One-pot method for preparing pyrimido[4,3-b]-[1,3,5]thiadiazines by reaction of aldehydes, cyanothioacetamide, formaldehyde, and primary amines // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2012. Vol. 48(4). P. 642–649.
4. Dou G., Zhong X. / A Facile and Efficient Ultrasound-Assisted Synthesis of 1,3,5-Tris-arylhexahydro-1,3,5-triazine through Mannich Reaction // HETEROCYCLES. 2013. Vol. 87(4). P. 877–883.

Попов А.С., Иванова И.С.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

popovas1965@mail.ru

СТАБИЛИЗАЦИЯ КАРБАНИОНОВ НЕЗАМЕЩЕННЫХ ПЯТИ- И ШЕСТИЧЛЕННЫХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ ЗА СЧЕТ ЭФФЕКТА СОЛЬВАТАЦИИ

Карбанионы незамещенных гетероциклов представляют собой реальные интермедиаты многих органических реакций. Изучение их строения, изомеризации и распада является актуальным для кинетических исследований в физической органической химии. В работе рассматривается количественная оценка работоспособности различных расчетов (AM1, 3-21GF+, 6-31GF* и MP2 6-31GF*) и их применение для анализа эффектов сольватации карбанионов в растворах в ТГФ и циклогексиламин. Сделаны выводы о стабилизации карбанионов в ионных парах в ТГФ и отсутствие пар в циклогексиламин и ДМСО.

Ключевые слова: квантово-химический расчет, энергия депротонирования, жидкофазная кислотность, ТГФ, циклогексиламин, ДМСО.

Popov A.S., Ivanova I.S.

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

STABILIZATION OF CARBANIONS OF UNSUBSTITUTED FIVE-AND SIX-MEMBERED HETEROCYCLES DUE TO THE SOLVATION EFFECT

Carbanions of unsubstituted heterocycles are real intermediates of many organic reactions. The study of their structure, isomerization and destruction is relevant, which is actual for kinetic researches in physical organic chemistry. It is considered the quantitative assessment of the various calculation method efficiency (AM1, 3-21+G, 6-31G* and MP2 6-31G*) and their application to analyze the effects of carbanions solvation in solutions of THF and cyclohexylamine.

Key words: quantum-chemical calculation, energy of deprotonation, liquid-phase acidity, THF, cyclohexylamine, DMSO.

Изучение механизма и кинетики реакций в органической химии часто сталкивается с проблемой рассмотрения процессов расщепления С-Н связи, образования карбанионов, их стабилизации, изо-

меризации и распада. Современным экспериментальным подходом к изучению карбанионов является использование методов ионного циклотронного резонанса, масс-спектрометрии высокого давления, послесвечения в потоке и лазерных технологий фемтосекундного разрешения. Интерес представляет также получение теоретической информации о структуре, электронном строении и энергии сродства к протону методами квантовой химии. В настоящем исследовании проводится сопоставление изменений энергии в процессах, связанных с карбанионами, полученных квантовохимическими расчетами, и экспериментальными данными по жидкофазной кислотности ряда гетероциклов и экспериментальными значениями сродства к протону. Предлагаемый подход позволяет выявить, количественно охарактеризовать и объяснить эффект сольватации для некоторых сильно основных растворителей.

В работе рассмотрены следующие незамещенные гетероциклы (указывается название, номер углерода, по которому происходит расщепление связи C-H и буквенное обозначение соединения, используемое в статье): азолы 1-метилимидазол 2C-H [A], триазол 2C-H [B], незамещенные азины: пиримидин 2C-H [C], 3C-H [D], 4C-H [E], пиразин 1C-H [F], пиридин 2C-H [G], 3C-H [H], 4C-H [J], пиридазин 3C-H [I], 4C-H [K], 1-метилпиррол 2C-H, фуран 2C-H [M], конденсированные гетероциклы: 1-метилиндол 2C-H [N], бензофуран 2C-H [O], 3C-H [P], бензотиофен 2C-H [Q], бензоксазол 2C-H [R], бензотиазол 2C-H [S].

В исследовании можно выделить два этапа. Первый — количественная оценка работоспособности квантово-химических методов расчета кислотности гетероциклических соединений. Второй — выявление и количественная оценка факторов, отвечающих за стабилизацию карбанионов в ряду растворителей, таких как процессы сольватации и ассоциации [1–3].

Квантово-химические расчеты в настоящее время считаются достаточно надежным источником информации об изменениях энергии различных структур, участвующим в химических превращениях как для азинов [4] так и для пятичленных гетероциклов [5]. В качестве альтернативы эксперименту следует рассматривать *ab-initio* расчеты в приближении Хартри-Фока-Рутаана. Такие расчеты в валентно-расщепленных базисах позволяют относительно точно рассчитать величину протонного сродства с ограниченным числом электронов в объекте. Выбор оптимальной схемы расчета является принципиальной задачей для количественных исследований. На первом этапе в нашем исследовании проведены расчеты в различных базисных наборах (см. табл.1), а также с поправками на элект-

тронные корреляции в рамках теории Меллера-Плессиды второго порядка. Также использованы данные по полуэмпирическим схемам расчета [6], которые были нами выполнены ранее. Как видно из данных, представленных в табл. 1, валентно-расщепленные базисы низкого уровня не вполне корректно описывают энергии расщепления С-Н связей для гетероциклов [G, H, J, K, F, M], а также для рассчитанных в качестве тестовых соединений некоторых производных бензола: бензол [T], фторбензол 2С-Н [U], 3С-Н [V], 4С-Н [W], нитробензола 2С-Н [X] и тиазол 2С-Н [Z]. Полученные расчетные данные, как правило, завышают протонное сродство относительно экспериментальных значений в 1.25 раза для гетероциклов и приблизительно в 1.27 раза для бензолов. Но изменения значений $\Delta E_{\text{депрот}}$, рассчитанные в валентно-расщепленных базисах высокого уровня, которые соответствуют различным С-Н связям в пиридине выстраиваются в следующей последовательности: $\Delta E_{\text{депрот}}(4\text{С-Н}) < \Delta E_{\text{депрот}}(3\text{С-Н}) < \Delta E_{\text{депрот}}(2\text{С-Н})$, это совпадает с последовательностью, рассчитанной с учетом поправок Меллера-Плессиды 2 порядка (2МП) [4] и совпадает с экспериментальными данными. Как видно из данных табл. 1, базис3-21+ГФ дает хорошие результаты для энергии депротонирования, по сравнению с экспериментом значения завышены на примерно 45 кДж/моль, но тенденции такие расчеты показывают правильно. Расчет в базисе 6-31ГФ* уменьшает энергию депротонирования на 10 кДж/моль. Расчеты с поправками МП2 улучшает расхождение с экспериментом еще на 15 кДж/моль. Следовательно, использование расчетов МП2 6-31ГФ* является достаточно надежным источником информации и поэтому такие расчеты были проведены во втором этапе настоящей работы.

В табл. 2 приведены расчетные квантово-химические данные, полученные в нашей работе, и жидкофазные значения pK_a , взятые из литературных источников [7, 8]. Жидкофазная характеристика энергии расщепления С-Н связи pK_a была измерена для апротонных слабополярных растворителей ТГФ и циклогексиламина. Это также отображено на рис. 1, на котором видно, что точки группируются отдельно для ТГФ (линия 1) и циклогексиламина (линия 2). Для выявления природы карбаниона в формировании значения жидкофазной кислотности, в настоящей работе использован подход, который мы ранее рассматривали в работе [9] на некоторых замещенных бензолах. Как видно из полученных данных (табл. 2 и рис. 1), по сравнению с рядом замещенных бензола точки для жидкофазной кислотности pK_a гетероциклов, измеренные в ТГФ, рас-

полагаются выше, чем точки для производных бензола, примерно на 50 кДж/моль.

Таблица 1. Экспериментальные и расчетные значения сродства к протону некоторых карбанионов, кДж/моль

Соединение	Эксперимент [4]	Метод расчета			
		AM1	3-21+ГФ	6-31ГФ*	МП2 6-31ГФ*
G	–	1637	1671	1750	1738
H	–	1662	1658	1761	1725
J	1642	1658	1686	1705	1690
I	–	1608	1575	1688	1659
K	1606	1622	1637	1647	1624
F	1649	1604	1682	1651	1640
M	1630	1617	1664	1639	1625
T	1670	1683	1737	1736	1717
U	1624	1654	1641	1647	1622
X	1583	1585	1602	1608	1591

Это можно объяснить тем, что избыточный отрицательный заряд карбаниона в случае гетероциклов более локализован, чем в замещенных бензолах, обладающих более высокой энергией ароматизации [11]. Этот факт подтверждается данными из источника [12], в котором указывается, что избыточный отрицательный заряд карбаниона преимущественно локализуется на атоме углерода, при котором связь расщепляется. Также в источнике [2] можно найти подтверждение большей локализации заряда карбаниона по большому наклону аппроксимационных линий, представленных на рис. 1.

Видно, что точки для тиофена 2С-Н [Y] и бензотиофена 2С-Р [Q] идут несколько выше линии 1, это коррелирует с избыточным распределением электронной плотности на 2С 0,44е и 0,38е по данным расчетов в приближении МП2 6-31ГФ*, это означает, что такие карбанионы должны повышено стабилизироваться за счет сольватации локализованного заряда карбаниона. Обращает на себя внимание тот факт [13], что сольватированные карбанионы с локализованным избыточным зарядом в слабополярных растворителях типа ТГФ могут существовать в виде контактных ионных пар.

Таблица 2. Энергии депротонирования $\Delta E_{\text{депрот}}$, вычисленные методом МП2 6-31ГФ* и экспериментальные значения pK_a

Соединение	$\Delta E_{\text{депрот}}$, кДж/моль	pK_a	
		ТГФ [12]	Циклогексиламин [10]
G	1738	–	–
H	1725	–	–
J	1690	–	–
I	1659	–	–
K	1624	–	–
C	1590	–	–
D	1612	–	–
E	1671	–	–
F	1640	–	–
L	1648	39,5	–
M	1625	35,6	–
Y	1641	33,0	38,2
A	1605	33,7	–
B	1620	28,3	29,5
O	1592	33,2	36,8
P	1669	–	–
Q	1628	32,4	37,1
R	1533	15,7	–
S	1543	28,0	28,1
Z	1579	28,3	29,5

В ионных парах карбанионах с деколлализованным зарядом замещенных бензолов энергия связи меньше, чем в изучаемых ионных парах карбанионов гетероциклов с высокой локализацией отрицательного заряда. Следовательно, образование ионных пар в растворе в ТГФ, по все видимости, приводит к существенному изменению в значения pK_a .

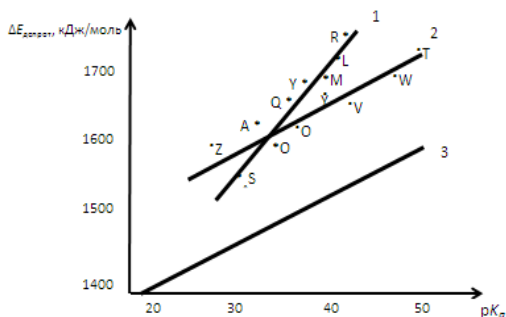


Рис. 1. Зависимость газофазной кислотности (энергии депротонирования $\Delta E_{\text{депрот.}}$, кДж/моль), рассчитанной методом МП2 6-31ГФ* от величины жидкофазной кислотности (pK_a). Обозначения соединений соответствуют табл.1 и 2. Аппроксимационная линия 1 — растворы в ТГФ, линия 2 — в циклогексиламинe, линия 3 — опорная линия из [9]

Как видно из рис. 1, линия 2, аппроксимирующая точки изучаемых соединений в растворе циклогексиламида цезия в циклогексиламинe лежит ниже линии 1. Это можно интерпретировать как понижение энергии ионных пар и росте неконтактных пар и свободных карбанионов в таких растворах по сравнению с растворами в ТГФ. В свете этого можно предположить, что в растворах в высокополярном ДМСО, способным хорошо сольватировать катионы, значения pK_a не будут выделяться из общей закономерности вследствие невозможности образования контактных ионных пар.

В заключение стоит отметить, что использование теоретических квантово-химических расчетов среднего уровня, использованных в настоящей работе, а также более высоких, требует дальнейшего тестирования на других объектах, это позволит строить более точные модели механизмов различных реакций.

Список литературы

1. Taft R.W. // Progr. Phys. Org. Chem. 1983. Vol. 14. P. 247-263.
2. Власов В.М., Оськина А.И. // Реакц. способн. орг. соед. 1989. Т. 26. Вып. 1. С. 1-29.
3. Тупицын И.Ф., Егоров С.А., Шибяев А.Ю. // ЖОХ. 1990. Т. 60. Вып.10. С. 2189-2200.
4. Veot-Ner M., Kaffari S.A. // J. Am. Chem. Soc. 1988. Vol. 110. N 19. P. 6297-6303.
5. De Puy Ch. H., Rass S., Bean C.P. // Rapid Commun. Mass. Spectrom. 1988. Vol. 53. N 19. P. 4427-4433.
6. Тупицын И.Ф., Попов А.С. // ЖОХ. 1992. Т. 62. Вып.10. С. 2319-2328.
7. Fraser R.R., Bresse M., Mansour T.S. // J. Am. Chem. Soc. 1983. Vol. 105. N 26. P. 7790-7791.
8. Streitwieser A., Scannon P.J., Niemeyer H.M. // J. Am. Chem. Soc. 1972. Vol. 94. N 22. P. 7936-7937.
9. Тупицын И.Ф., Попов А.С., Шибяев А.Ю. // ЖОХ. 1992. Т. 62. Вып.9. С. 2100-2111.
10. Streitwieser A., Jurasti E., Nebenzah L.L. Comprehensive Carbanion Chemistry. Structure and reactivity. Amsterdam^ Elsevier, 1980. Pt. A. P. 323-381.
11. Чухно А.С., Банкаина А.Н., Бриллиантова Е.Ю. // Бутлеровские сообщения. 2014. Т. 38. № 5. С. 84-88.
12. Дьюар М., Догерти Р., Теория возмущения молекулярных орбиталей в органической химии. М.: Мир, 1977. С. 77.
13. Fraser R.R., Mansour T.S., Savard S. // Canad. J. Chem. 1985. Vol. 63. N 12. P. 3505-3509.

УДК 547.979.733

Старцева О.М.¹, Котов И.С.¹, Белых Д.В.²

¹Сыктывкарский государственный университет
имени Питирима Сорокина, Сыктывкар

²Институт химии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук, Сыктывкар

¹*Om_startseva@mail.ru, ¹oxygenium66@gmail.com,*
²*belykh-dv@mail.ru*

СИНТЕЗ НОВОГО ХЛОРСОДЕРЖАЩЕГО ПРОИЗВОДНОГО

ХЛОРОФИЛЛА *a*

В представленной работе описывается синтез нового хлорсодержащего производного хлорофилла *a*.

Ключевые слова: производные хлорофилла, фотосенсибилизатор, диэтиленгликоль, трифенилфосфин.

Startseva O.M.¹, Kotov I.S.¹, Belykh D.V.²

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
«Pitirim Sorokin Syktyvkar State University»

Russian Federation, Syktyvkar

²Institute of Chemistry of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of
the Russian Academy of Sciences

Russian Federation, Syktyvkar

SYNTHESIS OF NEW CHLORINE-CONTAINING DERIVATIVES OF CHLOROPHYLL *a*

This work describes the synthesis of new chlorine-containing derivatives of chlorophyll *a*.

Key words: chlorophyll derivatives, photosensitizer, diethylene glycol, triphenylphosphine.

Хлорофилл *a* и получаемые из него производные являются перспективными соединениями для синтеза биологически активных веществ. Такие производные исследуются в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии онкологических заболеваний [1]. Внедрение на периферию макроцикла различных функциональных групп может создавать фотосенсибилизаторы с улучшенными свойствами [2], так, внедрение атома хлора увеличивает квантовый выход синглетного кислорода [3], а также повышает время жизни триплетного состояния [4]. Поэтому разработка методов синтеза хлорзамещенных хлоринов представляет большой интерес.

В представленной работе были получены хлор производные хлорофилла *a* с диэтиленгликольным фрагментом. Для замещения гидроксильной группы гликольного фрагмента на хлор проводили реакцию нуклеофильного замещения с трифенилфосфином в четыреххлористом углеороде (схема 1) [5].

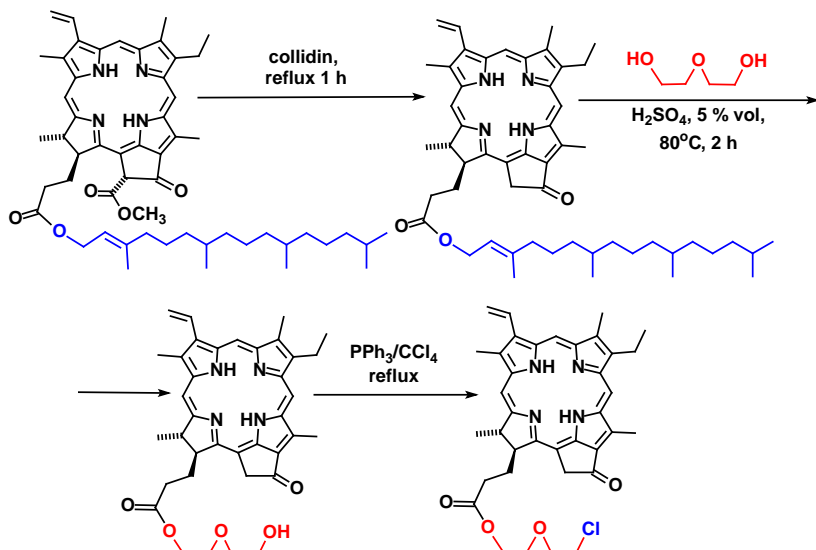


Схема 1.

Список литературы

1. Nyman E.S., Hynninen P.H. Research advance in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy // *Journal of Photochemistry and Photobiology B*: 2004. V.75. P. 1-28.
2. Jori G. Tumour photosensitizers: approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic therapy // *J. of Photochem. and Photobiol. B: Biology*. 1996. V. 36. P.87-93.
3. Serra A., Pineiro M., Santos C.I. et al. In Vitro Photodynamic Activity of 5,15-bis(3-Hydroxyphenyl)porphyrin and Its Halogenated Derivatives Against Cancer Cells//*Photochem. Photobiol.* 2010. V.86. P.206-212.
4. Azenha E.G., Serra A.C., Pineiro M., et al. Heavy-atom effects on metalloporphyrins and polyhalogenated porphyrins // *Chemical Physics*. 2002. V.280. P.177-190.
5. Реутов О.А., Курц А.Л., Бутин К.П. *Органическая химия*. Ч.2. М: Бином. 2005.

Хохрякова Д.А., Катаева Н.Н., Саркисян Н.Г.
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет» Минздрава России
Екатеринбург
diana_hohryakova@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЗУБНЫХ ПАСТ С ПЕПТИДАМИ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ

В статье приведены результаты измерений водородного показателя, буферной емкости, поверхностного натяжения и мутности смешанной слюны до и после использования зубных паст разнонаправленного действия с пептидами. Теоретически обоснована взаимосвязь между исследуемыми показателями смешанной слюны и здоровьем полости рта.

Ключевые слова: смешанная слюна, зубные пасты с пептидами, физико-химические показатели.

Khokhryakova D.A., Kataeva N.N., Sarkisian N.G.
Ural State Medical University
Yekaterinburg

STUDY OF THE TOOTHPASTE WITH PEPTIDES INFLUENCE ON THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF MIXED SALIVA

The article presents the results of measurements of pH, buffer capacity, surface tension and turbidity of mixed saliva before and after using multidirectional toothpastes with peptides. The relationship between the studied indicators of mixed saliva and oral health has been theoretically substantiated.

Key words: mixed saliva, toothpastes with peptides, physical and chemical parameters.

Введение. Смешанная слюна является естественной обменной средой полости рта и осуществляет множество функций по защите и поддержанию целостности твердых тканей зубов, слизистой оболочки полости рта и тканей пародонта. На состав и свойства слюны воздействует множество факторов, среди которых особое место занимают средства для гигиены полости рта. На сегодняшний день существуют ополаскиватели и зубные пасты, в состав которых производители добавляют низкомолекулярные синтетические пептиды, обладающие способностью стимулировать процессы регенерации ткани, усиливать синтез белков-антиоксидантов. Влияние бальзамов-ополаскивателей с пептидами на физико-химические

свойства слюны было изучено ранее [7]. Кроме того, существуют синтезированные пептиды, входящие в состав лекарственных средств, применяемых при лечении заболеваний пародонта, ранее проводилась оценка эффективности таких средств, а также их влияние на свойства слюны [5, 6].

Цель исследования. Оценить влияние зубных паст с пептидами на изменение таких физико-химических показателей смешанной слюны, как значение pH, буферная емкость по кислоте и по основанию, поверхностное натяжение, мутность.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования были выбраны 3 пасты с содержанием пептидов VIVAX Dent: «реминерализация», «профилактика воспалительных процессов», «при воспалении и кровоточивости десен».

В исследовании принимали участие 9 студентов, средний возраст 19 лет, 1-2 группы здоровья. Средний индекс КПУ группы равен 5. Основные используемые средства гигиены полости рта: зубная щетка и паста, дополнительные: зубная нить (4 человека), ополаскиватель (2 человека).

В ходе эксперимента производился забор смешанной слюны до использования зубных паст с пептидами и спустя 30 минут после их применения. Для смешанной слюны определялись следующие характеристики: pH (методом визуальной колориметрии), буферную емкость по кислоте (V_k) и по основанию (V_o) рассчитывали с учетом изменения pH слюны после добавления 0,01н HCl и 0,01н NaOH, поверхностное натяжение — σ (по методу Рединовой Т.Л.), мутность слюны определяли по величине оптической плотности на спектрофотометре «СФ-2000» (ООО «ОКБ Спектр», Санкт-Петербург), при длине волны 430 нм и длине оптического пути 10 мм. Данные показатели были выбраны для исследования, так как они существенно влияют на гомеостаз полости рта, а в случае нарушения динамического равновесия — на развитие патологических процессов: образования наддесневого зубного камня, реминерализации эмали, развития кариеса, воспаления десен и т.д.

Исследование проводилось на базе кафедры общей химии УГМУ, г. Екатеринбург.

Результаты исследования. Средние результаты измерений выбранных физико-химических свойств слюны до применения паст представлены в таблице 1. Практически все исследуемые показатели смешанной слюны участников эксперимента находятся в пределах физиологической нормы, лишь показатель поверхностного натяжения (σ) незначительно превышает норму.

Таблица 1. Физико-химические показатели слюны по применению зубных паст

Показатель смешанной слюны	Нормальное значение	Значение до применения пасты VIVAX Dent
pH	6,5–7,5	7,33
Вк, ммоль·экв/л	7,7–8,7	7,4
Во, ммоль·экв/л	7,1–7,9	7,33
σ , эрг/см ²	50–60	61,2
Оптическая плотность	–	0,5

В табл. 2 указаны значения данных показателей смешанной слюны спустя 30 мин после применения паст с пептидами.

Таблица 2. Физико-химические показатели слюны после применения зубных паст

Показатель смешанной слюны	Значение через 30 мин после применения пасты VIVAX Dent «профилактика воспалительных процессов»	Значение через 30 мин после применения пасты VIVAX Dent «при воспалении и кровоточивости»	Значение через 30 мин после применения пасты VIVAX Dent «реминерализация»
pH	7,11	7,3	7,11
Вк, ммоль·экв/л	7,56	7,41	7,67
Во, ммоль·экв/л	7,27	7,63	7,78
σ , эрг/см ²	59,9	52,13	47,3
Оптическая плотность	0,67	0,53	0,51

Все исследуемые пасты VIVAX Dent благоприятно влияют на pH смешанной слюны, понижая его в пределах нормы (6,5-7,5), что препятствует зашлачиванию ротовой жидкости и дальнейшему образованию наддесневого зубного камня [2].

Буферная емкость является важнейшим фактором, определяющим резистентность зубной эмали к кариесу путем нейтрализации кислот и щелочей, образующихся после приема пищи. Все пасты VIVAX Dent приводят к увеличению буферной емкости слюны по

отношению к кислотам, что способствует уменьшению риска деминерализации эмали и развития кариеса [4]. Большее действие на Вк оказывает паста VIVAX Dent «реминерализация», что подтверждает направленность ее действия.

Буферная емкость по основанию обеспечивает снижение риска возникновения минерализованного зубного налета. При значительной концентрации щелочных метаболитов на поверхности эмали зуба, содержащей мягкий зубной налет, происходит образование нерастворимых фосфатов и карбонатов кальция, которые способствуют быстрому росту зубного камня [3]. Увеличение буферной емкости по основанию наблюдается при использовании паст VIVAX Dent «при воспалении и кровоточивости» и «реминерализация», что говорит об их способности препятствовать образованию наддесневого зубного камня.

Поверхностное натяжение слюны обеспечивают ее смачивающую способность по отношению к тканям зубов и слизистой оболочке полости рта [1]. Все пасты VIVAX Dent приводят к уменьшению данного показателя, наибольший эффект оказывают пасты VIVAX Dent «при воспалении и кровоточивости» и «реминерализация», что способствует увеличению очищающей функции смешанной слюны и снижению риска налето- и камнеобразования.

Мутность отражает свойства слюны, как коллоидной системы. Коллоидные частицы способны поглощать поверхностным слоем другие вещества, поддерживая гомеостаз полости рта. Устойчивость ротовой жидкости как коллоидного раствора определяет ее минерализующую функцию [3]. Все пасты вызывают небольшое повышение оптической плотности слюны, то есть ее мутности, что связано с наличием в пастах пептидных комплексов, которые встраиваются в состав ротовой жидкости. Наибольшее изменение данного показателя вызывает паста VIVAX Dent «профилактика воспалительных процессов», это подтверждает наличие в ней наибольшей концентрации пептидов, которые участвуют в адсорбции метаболитов воспаления.

Выводы

1. Использование зубных паст с пептидами VIVAX Dent различного действия способствует сохранению pH смешанной слюны в пределах физиологической нормы.

2. Все исследуемые пасты VIVAX Dent повышают буферную емкость ротовой жидкости, что способствует резистентности зубной эмали к камнеобразованию и возникновению кариеса.

3. Зубные пасты VIVAX Dent «при воспалении и кровоточивости» и «реминерализация» значительно снижают поверхностное натяжение смешанной слюны, обеспечивая ее защитную функцию.

4. Паста VIVAX Dent «профилактика воспалительных процессов» заметно повышает мутность ротовой жидкости, что свидетельствует о встраивании пептидных комплексов в состав слюны.

Список литературы

1. Вавилова Т.П. Слюна. Аналитические возможности и перспективы / Т.П. Вавилова, О.О. Янушевич, И.Г. Островская. М.: Бином, 2014. 312 с.

2. Тарасенко Л.М., Непорада К.С. Биохимия органов полости рта. Учебное пособие для студентов факультета подготовки иностранных студентов. Полтава: Издавництво «Полтава», 2008.

3. Еловикова Т.М., Григорьев С.С. Слюна как биологическая жидкость и ее роль в здоровье полости рта. Екатеринбург, Издательский Дом «ТИРАЖ», 2018, изд. 1, 69 с.

4. Микаелян Н.П., Комаров О.С., Давыдов В.В., Мейснер И.С. Биохимия ротовой жидкости в норме и при патологии. Учебно-методическое пособие для самостоятельной работы студентов по специальности «Стоматология» / ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России. М.: ИКАР, 2017. 64 с.

5. Саркисян Н.Г., Катаева Н.Н., Тузанкина И.А., Меликян С.Г. Антимикробные пептиды в терапии слизистой полости рта. Российский иммунологический журнал. 2019. Т. 13(22), №2: 524-529.

6. Саркисян Н.Г., Катаева Н.Н., Тузанкина И.А., Меликян С.Г., Зурочка В.А., Зурочка А.В. Оценка эффективности спрея на основе синтетического пептида в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита // Инфекция и иммунитет. 2019; 9(3-4): 549-558.

7. Саркисян Н.Г., Катаева Н.Н., Юффа Е.П., Хлыстова К.А., Пермикина В.Н., Меликян С.Г. Влияние бальзамов ополаскивателей с пептидами на физико-химические свойства смешанной слюны // Врач. 2020; 31 (5): 77–79.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ

УДК 612.8.015:576.345

Власова Ю.А., Гайковская Л.Б., Крылова Л.С.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России
Санкт-Петербург
Yuliya.Vlasova@szgmu.ru

ВЛИЯНИЕ ЖИРОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ НА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В статье рассматриваются современные представления о роли жирорастворимых витаминов в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. Рассмотрена не только их роль как антиоксидантов, но и способность модулировать экспрессию генов белков, вовлеченных в патогенез.

Ключевые слова: жирорастворимые витамины, нейродегенерация, болезнь Альцгеймера.

Vlasova Yu.A., Gajkovaya L.B., Krylova L.S.

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

THE IMPACT OF FAT-SOLUBLE VITAMINS ON NEURODEGENERATIVE DISEASES

The article discusses modern ideas about the role of fat-soluble vitamins in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. Their role is considered not only as antioxidants, but also the ability to modulate the expression of genes of proteins involved in pathogenesis.

Key words: fat-soluble vitamins, neurodegeneration, Alzheimer's disease.

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенной причиной деменции у пожилых людей. Согласно современным представлениям БА является протеинопатией, развивающейся вследствие нарушения метаболизма белка — предшественника амилоида и тау-белка [1]. Ключевым патологическим событием является потеря белком его нормальной конформации, приводящая к накоплению олигомеров, состоящих из нескольких пептидов. Пептиды в итоге образуют нерастворимые агрегаты. Растворимые олигомеры и промежуточные продукты агрегации являются наибо-

лее токсичными для нервных клеток, тогда как конечные продукты агрегации относительно инертны. Это характерно как для β -амилоида (A β), так и для тау-белка. Нарушения когнитивных функций у человека и модельных животных коррелируют именно с количеством олигомеров в мозге, а не с общим содержанием патогенного белка [1]. Пептиды образуются из белка-предшественника амилоида (APP), в результате гидролиза секретазы, на активность которых значительное влияние оказывает липидное окружение. Жирорастворимые витамины (A, E, D, K) могут влиять прямо на выработку и клиренс A β , так и косвенно, изменяя клеточный липидный состав [2].

Витамин E обладает большим спектром биологического действия на организм, в том числе, являясь антиоксидантом, способен снижать уровень окислительного стресса. Известно, что свободные радикалы способствуют развитию различных патологических процессов, лежащих в основе когнитивных нарушений. В настоящее время широко изучаются возможности использования различных биологических веществ для лечения нейродегенеративных заболеваний, например, ганглиозиды [4], биофлавоноиды и витамины, обладающие антиоксидантной активностью. Витамин E так же был предложен в качестве потенциального лекарственного средства для лечения легких когнитивных нарушений и болезни Альцгеймера. Однако доказательств эффективности витамина E немного, в большинстве исследований, утверждается, что витамин E не предотвращает прогрессирование деменции и не улучшает когнитивных функций у пациентов с легкими когнитивными нарушениями или деменцией, вызванной болезнью Альцгеймера. Но в литературе встречаются и данные, свидетельствующие о том, что витамин E способен замедлить снижение функций при болезни Альцгеймера [1].

Изоформы витамина E (α -, β -, γ -и δ -токоферолы и токотриенолы) обладают мощными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, влияют на иммунную функцию, клеточную сигнализацию и снижение уровня холестерина. Витамин E способен модулировать экспрессию генов, влияя на несколько транскрипционных путей, в том числе, таких как рецептор, активирующий пролиферацию пероксисом (PPAR) и ядерный фактор NF- κ B. Обнаружено, что снижение уровня циркулирующего витамина E связано с риском развития болезни Альцгеймера в то время, как потребление витамина E, особенно из пищевых источников, может ограничить скорость прогрессирования болезни, что может объясняться синергическим действием изоформ витамина E и различных микроэле-

ментов [3]. Из всех изоформ витамина Е альфа-токоферол в наибольшей мере накапливается в разных тканях организма, для него характерна и наибольшая антиоксидантная активность, есть данные и о хорошо выраженном защитном действии на нервные клетки альфа-токотриенола [6]. Положительный эффект добавок витамина Е был изучен на моделях трансгенных мышей с БА. Добавление витамина Е приводило к снижению Аβ в мозге только молодых, но не пожилых мышей.

Известно, что альфа-токоферол снижает агрегацию Аβ и его токсичность, воспалительные процессы и образование активных форм кислорода (АФК) в культивируемых клетках [3,5].

Но существуют и факты, свидетельствующие о негативном влиянии токоферолов на патогенез БА. Так, при изучении влияния α-, γ- и δ-токоферола на продукцию и деградацию Аβ в клеточных линиях нейробластомы было обнаружено повышение секреции Аβ в присутствии токоферолов. Это действие было обусловлено повышенной экспрессией генов секретаз и ингибированием распада Аβ. Возможно, что при некоторых условиях такой амилоидогенный эффект изоформ витамина Е может ослаблять антиоксидантный эффект, поскольку известно, что Аβ способен усиливать окислительный стресс [2].

Витамин Е способен активировать фосфолипазу А₂, что в свою очередь приводит к увеличению высвобождения арахидоновой кислоты из мембранных липидов. Арахидоновая кислота активирует нейтральную сфингомиелиназу (nSMase), и таким образом, косвенно витамин Е приводит к увеличению уровня клеточного церамида и снижению уровня сфингомиелина. Повышение уровня проапоптотических и нейротоксичных церамидов стимулирует выработку APP, и следовательно, способствует увеличению уровня Аβ. Сфингомиелин, напротив, приводит к ингибированию расщепления APP секретазами и способствует снижению Аβ. Таким образом, активация фосфолипазы А₂ витамином Е приводит к усилению продукции Аβ из-за изменения соотношения церамид/сфингомиелин [7].

У больных БА наблюдается значительное снижение уровня витамина А в сыворотке и плазме крови. При этом обнаружено, что повышенные уровни β-каротина в плазме связаны с улучшением когнитивных функций у пожилых людей. Витамин А и его производные, ретиноиды, участвуют в дифференцировке нейронов, высвобождении нейромедиаторов, обладают антиоксидантными свойствами и способностью регулировать экспрессию генов путем взаимодействия с рецепторами ретиноевой кислоты (RARs) и

ретиноидными X-рецепторами (RXR), действующими в качестве факторов транскрипции. Обнаружено, что образование А β подавляется помощью RAR-зависимого механизм, при этом наблюдается снижение выработки витамина А в тканях, содержащих большое количество пептидов А β , таких как ткани головного мозга, пораженные БА [8].

Было показано, что витамин А, оказывает не только транскрипционные эффекты, но и влияет на выработку APP, изменяя внутриклеточную сортировку секретаз. Как оказалось, транс-ретиноевая кислота активирует транслокацию секретаз ADAM9, ADAM10 и BACE1, что и приводит к усилению неамилоидогенного протеолиза APP [8].

К витамерам витамина D, имеющим принципиальное значение для организма относятся витамин D3 (холекальциферол), 25-гидроксивитамин D3 (кальцидиол) и 1,25-дигидроксивитамин D3 (кальцитриол). Описаны антиоксидантные, противоишемические и противовоспалительные эффекты витамина D. Кальцитриол способен модулировать экспрессию генов путем связывания с ядерным рецептором витамина D (VDR). VDR образует комплекс с рецептором ретиноида X (RXR), который влияет на транскрипцию, взаимодействуя с определенными участками ДНК, которые называются «витамин-D-реагирующие элементы» (VDRE).

Было показано, что существует связь между полиморфизмом VDR и риском развития БА. Ряд исследований подтверждает пользу приема витамина D у пациентов, уже страдающих БА [9].

Считается, что витамин D может оказывать влияние на патогенез БА несколькими путями: синтез, распад, фагоцитоз, деградацию А β , а также фосфорилирование тау-белка. Было показано повышение уровня NEP, разрушающего А β , в ткани головного мозга пожилых крыс после приема добавок с витамином D. Так же витамин D может влиять на фосфорилирование тау-белка; обнаружено, что комбинация витамина D и ресвератрола снижает индуцированную А β 25-35 цитотоксичность и фосфорилирование тау-белка в клетках SH-SY5Y [2].

Витамин К представляет группу молекул, включающих природный витамин К1 (филлохинон) и К2 (менахинон). В ЦНС витамин К встречается преимущественно в виде менахинона-4 и регулирует активность белков, участвующих в клеточном росте, миелинизации, митогенезе, хемотаксисе и нейропротекции [10]. Известно, что применение антагонистов витамина К в качестве антикоагулянтов, связано с более частыми нарушениями когнитивных функций у пациентов [2].

Интересно, что витамин К стимулирует активность серинпальмитоил-коА-трансферазы (SPT) и цереброзидсульфотрансферазы (CST). SPT инициирует синтез сфинголипидов. CST является одним из ферментов, катализирующих превращение церамидов в сульфатиды. Соответственно, дефицит витамина К будет приводить к значительному снижению уровня сульфатидов в мозге [11]. Известно, что у пациентов с БА значительно снижены уровни сульфатидов в СМЖ [12]. В культурах клеток сульфатиды снижают концентрацию А β , возможно, это связано с облегченным клиренсом А β путем эндоцитоза, в ответ на повышение сульфатидов в клетках. У крыс, с дефицитом витамина К наблюдается повышение уровня церамидов в гиппокампе и снижение уровня ганглиозидов в продолговатом и среднем мозге [13].

Безусловно, те факты, которые свидетельствуют о том, что дефицит витаминов А, D, Е и К приводит к повышению уровня А β в мозге и/или ослаблению когнитивных функций, в то время как добавление витаминов А, D и Е приводит к противоположным эффектам, могут иметь важное значение для дальнейших клинических исследований. Однако для оценки потенциала этих соединений необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучении эффективности жирорастворимых витаминов и их влияния на молекулярные механизмы патогенеза нейродегенеративных заболеваний.

Список литературы

1. Кухарский М.С., Овчинников Р.К., Бачурин С.О. Молекулярные аспекты патогенеза и современные подходы к фармакологической коррекции болезни Альцгеймера // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015;115(6):103-114. <https://doi.org/10.17116/jnevro20151156103-114>
2. Grimm M.O., Mett J., Hartmann T. The Impact of Vitamin E and Other Fat-Soluble Vitamins on Alzheimer's Disease // Int J Mol Sci. 2016 Oct 26;17(11):1785. doi: 10.3390/ijms17111785.
3. Farina N, Llewellyn D, Tabet N. Vitamin E for Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment // Cochrane Database Syst Rev. 2017 Apr 18;4(4):CD002854. doi: 10.1002/14651858.
4. Власова Ю.А., Захарова И.О., Соколова Т.В., Аврова Н.Ф. Метаболические эффекты ганглиозида GM1 на клетки PC12 при окислительном стрессе зависят от модуляции активности тирозинкиназы TRK рецепторов // Ж. эвол. биохимии и физиологии. 2013. Т.49. №1. С.15-23.

5. Khlistunova I, Biernat J, Wang Y, Pickhardt M, von Bergen M, Gazova Z, Mandelkow E, Mandelkow EM. Inducible expression of Tau repeat domain in cell models of tauopathy: aggregation is toxic to cells but can be reversed by inhibitor drugs // *J. Biol. Chem.* 2006;281:2:1205-1214.
6. Власова Ю.А. Аврова Н.Ф. Антиоксидантный эффект альфа-токоферола в наномолярных концентрациях, роль модуляции активности тирозинкиназы Trk рецепторов. *Нейрохимия.* 2010. Т. 4. № 3. С. 202-208.
7. Grösgen S., Grimm MO., Friess P., Hartmann T. Role of amyloid beta in lipid homeostasis // *Biochim Biophys Acta.* 2010 Aug;1801(8):966-74. doi: 10.1016/j.bbaliip.2010,05.002. Epub 2010 May 7. PMID: 20452461.
8. Chakrabarti M., McDonald AJ., Will Reed J., Moss MA., Das BC., Ray SK. Molecular Signaling Mechanisms of Natural and Synthetic Retinoids for Inhibition of Pathogenesis in Alzheimer's Disease // *J Alzheimers Dis.* 2016;50(2):335-52. doi: 10.3233/JAD-150450. PMID: 26682679; PMCID: PMC4823019.
9. Landel V., Annweiler C., Millet P., Morello M., Féron F. Vitamin D, Cognition and Alzheimer's Disease: The Therapeutic Benefit is in the D-Tails. *J Alzheimers Dis.* 2016 May 11;53(2):419-44. doi: 10.3233/JAD-150943. PMID: 27176073; PMCID: PMC4969697.
10. Alisi L., Cao R., De Angelis C., Cafolla A., Caramia F., Cartocci G., Librando A., Fiorelli M. The Relationships Between Vitamin K and Cognition: A Review of Current Evidence // *Front Neurol.* 2019 Mar 19;10:239. doi: 10.3389/fneur.2019.00239. PMID: 30949117; PMCID: PMC6436180.
11. Alisi L., Cao R., De Angelis C., Cafolla A., Caramia F., Cartocci G., Librando A., Fiorelli M. The Relationships Between Vitamin K and Cognition: A Review of Current Evidence // *Front Neurol.* 2019 Mar 19;10:239. doi: 10.3389/fneur.2019.00239. PMID: 30949117; PMCID: PMC6436180.
12. Han X., Fagan A.M., Cheng H., Morris J.C., Xiong C., Holtzman D.M. Cerebrospinal fluid sulfatide is decreased in subjects with incipient dementia // *Ann. Neurol.* 2003;54:115-119.
13. Carrie I., Belanger E., Portoukalian J., Rochford J., Ferland G. Lifelong low-phyloquinone intake is associated with cognitive impairments in old rats // *J. Nutr.* 2011;141:1495-1501.

Власова Ю.А.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

Yuliya.Vlasova@szgmu.ru

КАТАБОЛИЗМ ГАНГЛИОЗИДОВ

В статье рассматривается процесс катаболизма ганглиозидов и механизм развития заболеваний, связанных с нарушением распада ганглиозидов.

Ключевые слова: ганглиозиды, лизосомальные болезни накопления.

Vlasova Yu.A.

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

St. Petersburg

CATABOLISM OF GANGLIOSIDES

The article discusses the process of ganglioside catabolism and the mechanism of development of lysosomal storage diseases.

Key words: gangliosides, lysosomal accumulation diseases.

Ганглиозиды представляют собой гликосфинголипиды, содержащие сиаловые кислоты. Это самые сложные липиды, характерные для нервной ткани. В состав ганглиозидов входит гидрофобная церамидная часть, образованная связанными между собой пептидной связью остатками сфингозина и жирной кислоты, и гидрофильная, олигосахаридная часть. Олигосахаридная часть молекулы основных ганглиозидов мозга состоит из остатков глюкозы, галактозы и N-ацетилгалактозамина, образующих углеводную цепь, к которой присоединены остатки сиаловых кислот, преимущественно N-ацетилнейраминовой кислоты.

Ганглиозиды являются компонентами мембран различных органов. При этом у позвоночных нервная ткань содержит намного более высокие концентрации ганглиозидов, чем экстрацеллюлярные органы. У иглокожих, напротив, наиболее богаты ганглиозидами гонады, а нервная ткань бедна ганглиозидами. Ганглиозиды очень разнообразны по строению. Но в ткани мозга они представлены преимущественно четырьмя сходными по строению ганглиозидами, различающимися лишь по числу и местоположению остатков сиаловых кислот. Эти основные ганглиозиды мозга носят название GM1, GD1a, GD1b и GT1b. Исторически сложилось так, что катаболизм ганглиозидов исследуется более интенсивно, чем их био-

синтез. Расщепление ганглиозидов осуществляется следующими ферментами: нейраминидазой или сиалидазой, отщепляющие остатки сиаловых кислот, галактозидазой или галактозид-галактогидролазой, глиузидазой или глюкозил-глюкогидролазой, N-ацетилгексоминидазой и церамидазой [1, 2].

Основные процессы расщепления ганглиозидов локализованы в лизосомах. Но начальные этапы разрушения ганглиозидов проходят уже в плазматической мембране, где в результате гидролиза, катализируемого мембранной сиалидазой, из полисиалоганглиозидов образуется ганглиозид GM1. Сиалидазы различных тканей способны отщеплять терминальные остатки сиаловых кислот от поли- и дисиалоганглиозидов, а также GM3 или GM2, но не от GM1-ганглиозида, в котором остаток сиаловой кислоты связан с внутренней галактозой. Наличие N-ацетилгалактозамина является стерической помехой для отщепления последнего остатка сиаловой кислоты от внутренней галактозы. Активность нейраминидазы зависит от вязкости мембран и содержащихся в них ганглиозидов и регулируется по принципу обратной связи. Например, ганглиозид GM1, являющийся продуктом реакции, тормозит активность фермента [3].

После удаления ганглиозидов из плазматической мембраны путем эндоцитоза дальнейшее разрушение происходит в лизосомах [4]. Под действием различных гликозидаз (галактозидазы, отщепляющей терминальную галактозу от GM1, с образованием GM2; N-ацетилгексозаминидазы, отщепляющей N-ацетилгалактозамин от GM2 с образованием ганглиозида GM3) и других ферментов распада ганглиозидов углеводные остатки последовательно удаляются и остается керамид. Керамид под действием церамидазы расщепляется на остатки сфингозина и жирных кислот. Активность цитозольной сиалидазы (нейраминидазы) в нервных окончаниях выше, чем в телах нейронов или глиальных клеток [5]. Для проявления активности многих ферментов распада требуется наличие активатора белковой природы, что показано для GM1-галактозидазы и других ферментов [6].

У человека описаны многие генетические дефекты синтеза ферментов катаболизма как сфинголипидов, в том числе и ганглиозидов, так и фосфолипидов, приводящие к возникновению лизосомных болезней накопления. Всего в настоящее время описано около 50 лизосомных болезней накопления, среди которых значительное число составляют болезни, связанные с нарушением катаболизма сфинголипидов, в том числе и гликосфинголипидов (болезнь Нимана–Пика, болезнь Гоше, болезнь Тея–Сакса и др.). Для большинства сфинголипидозов характерны проявления нервной дисфунк-

ции, нарушения психомоторного развития, поражения не только мозга, но и периферических органов.

В настоящее время идентифицировано большинство генов, мутации в которых приводят к снижению активности лизосомных ферментов, известна их локализация на хромосомах. Количество разновидностей мутаций в каждом гене достигает сотен, хотя число наиболее часто встречаемых в различных популяциях мутаций не более 10–20. Как правило, активность лизосомных ферментов у больных не выше 10–20% от нормы, хотя нет прямой корреляции между уровнем активности дефектного фермента и тяжестью клинических проявлений [7].

Наиболее распространенной лизосомной болезнью накопления, связанной с нарушением распада ганглиозидов является болезнь Тея–Сакса. Эта болезнь вызвана нарушением синтеза и снижением активности гексозаминидазы. Другой формой болезни, связанной с нарушением синтеза этого фермента, является болезнь Сандхоффа, при которой наблюдается еще более тяжелые клинические проявления [7]. Недостаточность гексозаминидазы приводит к накоплению GM2 в головном мозге, в меньшей степени — во внутренних органах, в результате чего происходит нарушение функции нейронов. Для этого заболевания характерна центральная демиелинизация. При болезни Тея–Сакса GM2-ганглиозид составляет 6–12% сухой массы мозга, в то время как в норме присутствует в следовых количествах. Было показано, что гексозаминидаза существует в двух формах — А и В, при этом синтез гексозаминидазы В кодируется только одним геном HEXB, синтез гексозаминидазы А генами HEXB и HEXA, расположенными на разных хромосомах. При болезни Сандхоффа в результате мутации общей субъединицы фермента наблюдается отсутствие активности гексозаминидазы А и В, тогда как при болезни Тея–Сакса сохраняется активность гексозаминидазы В. В зависимости от возраста, в котором происходит манифестация заболевания, выделяют три клинических формы болезни Тея–Сакса: детская, ювенильная и взрослая. Детская форма является наиболее тяжелой. При ней в раннем возрасте наблюдается отставание в развитии, судорожные припадки, частичная или полная утрата зрения. Летальный исход наступает обычно в возрасте 3–4 лет. Недостаточность β -галактидазы приводит к развитию GM1 ганглиозидоза (муколипидоза) [8]. При этой болезни активность фермента β -галактидазы составляет менее 10% от его активности в норме. Ганглиозид GM1 в больших количествах накапливается в базальных ганглиях [9]. Различают три формы заболевания: детскую (инфантильную), ювенильную и взрослую. При инфантиль-

ной форме наблюдается прогрессирующая задержка умственного развития, скелетные дисплазии, гапатоспленомегалия. Больные погибают в возрасте 2 лет. Прогрессирующая задержка умственного развития, судороги, потеря зрения и другие тяжелые клинические проявления мозговой дисфункции, сопровождающие нарушения активности ферментов синтеза и распада ганглиозидов, свидетельствуют о важной роли ганглиозидов в функциональной активности нейронов центральной нервной системы человека и животных [8].

Список литературы

1. Schulze H. Principles of lysosomal membrane degradation: Cellular topology and biochemistry of lysosomal lipid degradation / H. Schulze, T. Kolter, K. Sandhoff // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V. 1793. N. 4. P. 674-683.
2. Власова Ю.А., Захарова И.О., Соколова Т.В., Аврова Н.Ф. Метаболические эффекты ганглиозида GM1 на клетки PC12 при окислительном стрессе зависят от модуляции активности тирозинкиназы TRK рецепторов // *Ж.эвол.биохимии и физиологии.* 2013. Т.49. №1. С.15-23.
3. Wendeler M. Hexosaminidase assays / M. Wendeler, K. Sandhoff, J. Glycoconj. 2009. V. 26. N. 8. P. 945-952.
4. Kolter T. Recent advances in the biochemistry of glycosphingolipid metabolism / T. Kolter, T. Doering, G. Wilkening, N. Werth, K. Sandhoff // *Biochem. Soc. Trans.* 1999. V.27. N. 4. P. 409-415.
5. Wielgat P. The participation of sialic acids in microglia-neuron interactions / P. Wielgat, J. Braszko // *Cell Immunol.* 2012. V. 273. N. 1. P. 17-22.
6. Yu R.K. Functional roles of gangliosides in neurodevelopment: an overview of recent advances / R.K. Yu, Y.T. Tsai, T. Ariga // *Neurochem. Res.* 2012. V. 37. N. 6. P. 1230-1244.
7. Sandhoff K. The GM2-gangliosidoses and the elucidation of the beta-hexosaminidase system / K. Sandhoff // *Adv. Genet.* 2001. V. 44. P. 67-91.
8. Bach G. Mucopolipidosis type IV and the mucopolipins / G. Bach, D.A. Zeevi, A. Frumkin, A. Kogot-Levin // *Biochem. Soc. Trans.* 2010. V. 38. N. 6. P. 1432-1435.
9. Ong M.T. Dual diagnosis of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and GM₁ gangliosidosis / M.T. Ong, G.C. Chow, R.E. Morton // *Pediatr. Neurol.* 2012. V. 46. N. 3. P. 178-181.

Вольхина И.В.¹, Наумова Н.Г.²

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет»

Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия»

Ижевск

volchinaiv@gmail.com

ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНОВ СИАЛОГЛИКОКОНЬЮГАТОВ И КОЛЛАГЕНА В ТКАНЯХ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИИ

При иммобилизации у крыс происходит активация катаболических процессов с максимумом на 3-й день опытов. Степень изменений изучаемых показателей обмена коллагена в стенке и слизистой оболочке тонкой кишки крыс при иммобилизации была меньше, чем у показателей обмена сиалосодержащих соединений в этих же тканях.

Ключевые слова: иммобилизация, сиаловые кислоты, коллаген, тонкая кишка.

Volkhina I.V.¹, Naumova N.G.²

¹St. Petersburg State Pediatric Medical University
St. Petersburg

²Izhevsk State Medical Academy
Izhevsk

METRICS OF SIALOGLYCOCONJUGATE AND COLLAGEN EXCHANGES IN RAT SMALL INTESTINE TISSUES DURING IMMOBILIZATION

Immobilization in rats results in the activation of catabolic processes with the maximum on the 3rd day of the experiments. The degree of changes in the studied parameters of collagen metabolism in the rat small intestine wall and mucosa during immobilization was lower than that of sialose metabolism in the same tissues.

Key words: immobilization; sialic acids; collagen; small intestine.

Введение. Человек в современном мире практически постоянно подвергается разнообразным стрессовым воздействиям. Поэтому изучению развития стрессиндуцированной патологии уделяется значительное внимание.

Важным звеном ассимиляции пищевых веществ является желудочно-кишечный тракт, который в значительной степени определяет скорость и направленность метаболизма. В результате стрессо-

генных воздействий образуются эрозивно-язвенные повреждения слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, нарушается моторика кишечника, наблюдаются изменения всасывания жидкости, электролитов, глюкозы, повышается пассивная проницаемость слизистой тонкой кишки [3, 7].

Коллаген и различные сиалогликоконъюгаты являются важными компонентами соединительной ткани, но при этом выполняют абсолютно разные функции.

Сиаловые кислоты (СК) являются производными нейраминовой кислоты и занимают терминальное положение в олиго- и полисахаридных цепях гликопротеинов и гликолипидов (ганглиозидов), обуславливая их отрицательный заряд. Претерминальными остатками чаще всего являются остатки галактозы и N-ацетилгалактозамина [10].

Наличие и количество этих моносахаридных остатков определяют структуру, физико-химические свойства и выполняемые функции углеводсодержащих соединений. Благодаря своему расположению на клеточной поверхности СК защищают макромолекулы и клетки от ферментативных и иммунологических атак и, таким образом, способствуют врожденному иммунитету. В противоположность этой маскирующей роли, обеспечивающей, например, клеткам крови и сывороточным гликопротеидам более длительный срок жизни, селектины и сиглеки распознают и связывают СК [10, 11].

Тонкая кишка имеет один слой поверхностной слизи, которая не прикреплена и легко удаляется. Основной секретируемый гелеобразующий муцин тонкой кишки MUC2, на концах углеводных цепей которого располагаются остатки СК [8].

Муцины способствуют прохождению веществ по желудочно-кишечному тракту, создают защитный барьер, участвуют во взаимодействии эпителиальных клеток с окружающей их средой и в передаче клеточных сигналов, оказывая влияние на процессы пролиферации и иммунологические реакции [6]. В последних процессах активную роль принимают остатки СК.

Коллагены являются наиболее распространенными структурными белками внеклеточного матрикса соединительной ткани. Они участвуют в поддержании определенной формы тканей и органов, регуляции водно-солевого обмена, процессах заживлении ран, агрегации тромбоцитов, а также в воспалительных и дегенеративных процессах [2, 9]. Значительная часть коллагенового пула обновляется с очень медленной скоростью [12].

В качестве маркера распада коллагенов рассматривается повышение содержания свободного оксипролина в биологических жидкостях и тканях [1, 2].

Целью исследования явилось изучение влияния иммобилизации на изменения показателей обмена сиалогликоконъюгатов и коллагена в стенке и слизистой оболочке тонкой кишки крыс.

Материалы и методы. Исследования проводили на белых беспородных самцах крыс в осенне-зимний период. Контрольную группу составили интактные животные, находившиеся на обычном рационе вивария. В постановке опытов руководствовались правилами проведения работ на экспериментальных животных (приложение к приказу Министерства здравоохранения № 267 от 19.06.2003 г.).

Для моделирования стресса использовали ежедневную 3-х часовую иммобилизацию на спине в течение 8 дней. В исследуемых тканях крыс определяли показатели обмена коллагена (уровень свободного, пептид- и белоксвязанного оксипролина (СО, ПСО и БСО соответственно) и обмена сиалосодержащих биополимеров (содержание свободных, олигосвязанных и белоксвязанных СК (ССк, ОСК и БСК соответственно) в стенке и слизистой оболочке тонкой кишки. Показателями развития стресса являлись уровень 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови, соотношение массы надпочечников к массе тела крысы (Кн) и наличие визуально видимых деструктивных повреждений стенки желудка. Все вышеперечисленные показатели изучались на 1, 3, 5 и 8 дни опытов.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета Statistica 6.0 фирмы StatSoft.

Результаты и их обсуждение. У интактных животных в плазме крови Кн равнялось $0,186 \pm 0,019$, содержание 11-ОКС составило 411 ± 10 мкг/л. В стенке тонкой кишки концентрация ССК наблюдалась в следовых количествах, содержания ОСК и БСК равнялись соответственно $42,3 \pm 1,2$ и 584 ± 12 мг/кг сухой обезжиренной ткани. В слизистой оболочке тонкой кишки уровень ССК, ОСК и БСК у контрольный крыс соответствовал $38,9 \pm 1,8$, 346 ± 13 и 3963 ± 131 мг/кг сухой обезжиренной ткани. Концентрация СО, ПСО и БСО в стенке тонкой кишки контрольных крыс составила $0,120 \pm 0,006$, $0,334 \pm 0,027$ и $17,79 \pm 0,81$ г/кг сухой обезжиренной ткани соответственно. Содержания СО, ПСО и БСО в слизистой тонкой кишки равнялись $0,107 \pm 0,006$, $0,124 \pm 0,021$ и $3,96 \pm 0,27$ г/кг сухой обезжиренной ткани соответственно.

Таким образом, показатели обмена сиалогликоконъюгатов у контрольных крыс были более выражены в слизистой оболочке тонкой кишки, а показатели обмена коллагена — в стенке тонкой кишки.

Иммобилизационный стресс вызывал у экспериментальных животных активацию катаболических процессов с максимальным увеличением на 3-й день опытов, что подтверждается наибольшим количеством визуально определяемых эрозивно-язвенных повреждений слизистой желудка у экспериментальных крыс. После 1, 3, 5 и 8-го дней иммобилизации визуально видимые деструктивные повреждения слизистой оболочки желудка были обнаружены у 29, 79, 50 и 14% крыс соответственно [4].

У крыс при иммобилизации наблюдалось повышение концентрации 11-ОКС на 38% ($p < 0,001$), 105% ($p < 0,001$), 53% ($p < 0,001$) и 22% ($p < 0,01$) от контрольного уровня в 1, 3, 5 и 8-й дни опытов соответственно. Кн достоверно значимо возрастало на 37% ($p < 0,05$) только на 3-й день опытов.

В стенке тонкой кишки уровень ССК, ОСК и БСК был выше контрольных значений во все дни экспериментов. Максимальное повышение наблюдалось для ССК и ОСК на 5-й день опытов (+34% и +139% соответственно), а для БСК на 3-й (+31%). В слизистой оболочке тонкой кишки наблюдалась похожее увеличение, но максимум значений отмечался для всех исследуемых показателей обмена сиалогликоконъюгатов на 3-й день экспериментов (повышение уровня ССК, ОСК и БСК на 63, 42 и 36% соответственно).

Значительные изменения показателей обмена сиалогликоконъюгатов в исследуемых тканях можно объяснить высокой скоростью различных метаболических превращений в стенке и слизистой тонкой кишки. Помимо всасывания пищевых веществ из просвета кишки в кровь, одновременно с ним в обратном направлении идет значительный транспортный поток различных веществ (пищеварительных ферментов, гликопротеинов слизи, бикарбонатов и электролитов, субстрат-связывающих белков и секреторных иммуноглобулинов), связанный с процессами секреции, экскреции и физиологической регенерации слизистой оболочки тонкой кишки [5].

В самих энтероцитах происходят интенсивные превращения всасывающихся продуктов переваривания. В результате происходит обновление содержимого клеток слизистой кишечника с высокой скоростью (выделение веществ из эпителиоцитов в просвет кишечника и в кровь, поступление в клетки слизистой из просвета кишечника в процессе всасывания, активное превращение веществ внутри самих клеток слизистой). Во всех этих процессах активное участие принимают СК и сиалосодержащие соединения.

В стенке тонкой кишки содержание СО превышало контрольный уровень во все сроки эксперимента, кроме 8-го, на 22% ($p < 0,01$), 41% ($p < 0,001$) и 31% ($p < 0,01$) соответственно. Концентрация ПСО достоверно повышалась на 3-й и 5-й дни наблюдений. Уровень БСО был ниже контрольных значений только на 3-й день экспериментов. В слизистой оболочке тонкой кишки содержание СО повышалось на 1, 3 и 5 дни опытов, концентрация ПСО — только на 5-й день наблюдений (+43%, $p < 0,05$), а уровень БСО колебался в пределах нормы.

Таким образом, иммобилизационный стресс вызывал у животных активацию катаболических процессов с максимумом на 3-й день опытов, что подтверждается наибольшим количеством видимых эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки желудка у экспериментальных крыс.

Степень изменений изучаемых показателей обмена коллагена в стенке и слизистой оболочке тонкой кишки крыс при иммобилизации была меньше, чем у показателей обмена сиалосодержащих соединений в этих же тканях.

Список литературы

1. Биохимия минерализованных тканей и соединительнотканного матрикса (учебное пособие, рекомендованное УМО). Ижевск: ИГМА, 2012. 110 с.
2. Биохимия соединительной ткани // Биохимия / Данилова Л.А., Батоцыренова Е.Г., Вольхина И.В., Иванов Д.О., Красникова Е.Н., Литвиненко Л.А., Раменская Н.П., Чайка Н.А. Учебник для вузов. Санкт-Петербург, 2020. С. 296–305.
3. Винникова С.В. Изменение мембранного пищеварения в тонкой кишке при стрессе. // Вестник уральской медицинской академической науки. 2014. № 3. С. 184-185.
4. Вольхина И.В., Наумова Н.Г. Сравнительный анализ изменений показателей обмена биополимеров соединительной ткани в стенке желудка при иммобилизации у крыс с различной устойчивостью к стрессу // Вестник УдГУ. Ижевск. 2012. Вып.1. С. 55-58.
5. Лысыков Ю.А. Фундаментальные механизмы пищеварения. // Медицинский алфавит. 2015. № 16. С. 17-27.
6. Москалев А.В., Сбойчаков В.Б., Апчел А.В., Цыган В.Н. Роль сиаловых кислот в поддержании иммунного гомеостаза. // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2018. 3(63). С. 233-237.
7. Сусликова М.И., Мирошниченко И.А., Корьтов Л.И., Губина М.И. Закономерности изменения всасывания глюкозы в тонком кишечнике

при иммобилизационном стрессе (экспериментальное исследование) // Сибирский медицинский журнал. 2010. №1. С. 36-38.

8. Johansson M.E., Sjövall H., Hansson G.C. The gastrointestinal mucus system in health and disease // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013. 10(6). P. 352-61. doi: 10.1038/nrgastro.2013.35.

9. Querejeta R., Varo N., Lopez B., Larman M. Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease // *Circulation*. 2000. Vol. 101. P. 1729-1735. doi: 10.1161/01.cir.101.14.1729.

10. Schauer R., Kamerling J.P. Exploration of the Sialic Acid World // *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem*. 2018. 75. P.1–213. doi: 10.1016/bs.accb.2018.09.001.

11. Torben H., Johan F. A. P., Johan F. A. P., Christian B. et al. Metabolic Sialylation Inhibitors Based on C-5-Modified Fluorinated Sialic Acids // *J. Med. Chem*. 2019. 62. 2. P.1014-1021 Publication Date:December 13, 2018. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b01757.

12. Zhou H., Wang S.-P., Herath K., Kasumov T. et al. Tracer-based estimates of protein flux in cases of incomplete product renewal: evidence and implications of heterogeneity in collagen turnover. // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2015. 309(2). P.115–21. doi:10.1152/ajpendo.00435.2014.

УДК 616.441-008.6-092.9:577.112.38

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

Белорусский государственный медицинский университет

Минск, Республика Беларусь

Hlinnik-bioorganic@yandex.by, ryneiskaya@mail.ru,

romanovskyyjv@gmail.com

КОМБИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО КОМПЛЕКСА С L-ТИРОКСИНОМ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ АНТИОКСИДАНТНОГО И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С ГИПОТИРЕОЗОМ

Проведена оценка эффективности коррекции пропилтиоурацилового гипотиреоза с помощью L-тироксина и комплекса аминокислот (селенометионин — 30 мкг/кг, метионин — 25 мкг/кг, серин — 16 мкг/кг) по гормональному статусу и по состоянию ферментативных антиоксидантных систем печени и мозга крыс.

Ключевые слова: экспериментальный гипотиреоз, гормональный статус, антиоксидантный статус, тироксин, селенометионин.

Hlinnik S.V., Ryneiskaya O.N., Romanovsky I.V.

Belarusian State Medical University

Minsk, Republic of Belarus

**COMBINATION OF AN AMINO ACID COMPLEX WITH L-THYROXINE TO
CORRECT THE ANTIOXIDANT AND HORMONAL STATUS OF
EXPERIMENTAL ANIMALS WITH HYPOTHYROIDISM**

The effectiveness of the correction of propyl thiouracil hypothyroidism using L-thyroxine and a complex of amino acids (selenomethionine — 30 µg/kg, methionine — 25 µg/kg, serine — 16 µg/kg) was assessed according to the hormonal status and the state of the enzymatic antioxidant systems of the liver and brain of rats.

Key words: experimental hypothyroidism, hormonal status, antioxidant status, thyroxine, selenomethionine.

Введение. В настоящее время гипотиреоз занимает одно из ведущих мест в патологии эндокринных органов. Необходимость изучения детальных механизмов патогенеза данного заболевания, сопровождающегося нарушением всех видов обмена веществ, объясняется тем, что заместительная терапия, используемая при его лечении, не обеспечивает в полной мере необходимый баланс гормонов щитовидной железы, обеспечивающий полноценное функционирование организма [7]. И наряду с радикальными медицинскими технологиями (трансплантация фрагментов щитовидной железы или ее клеток) совершенствование медикаментозных методов коррекции гипотиреоза, в том числе с использованием селеносодержащих аминокислот [8] является весьма актуальным.

Цель исследования: оценить возможность использования комплекса аминокислот (селенометионин, метионин, серин) и L-тироксина для коррекции экспериментального гипотиреоза по гормональному статусу и по активности ферментативных антиоксидантных систем мозга и печени крыс.

Материалы и методы. Исследования были проведены на крысах-самцах массой 200-250 г., отобранных для эксперимента при помощи теста «открытое поле» [1]. Для моделирования экспериментального гипотиреоза использовался пропилтиоурацил [5]. Коррекцию гипотиреоидного состояния животных проводили при помощи левотироксина натрия в составе препарата «Эутирокс» (Nuscomed, Германия), селенометионина в составе селеносодержащего органического препарата (Alltech, Ирландия; 1 г препарата содержал 1 мг Se-аминокислот: 50% — Se-метионина и 25% — Se-цистеина), аминокислот: метионина и серина (Sigma, Германия).

Все препараты вводили внутривенно, в виде водных растворов необходимых концентраций в течение 14 суток крысам, которые были разделены на следующие группы (по 8 особей в каждой): 1 группа (T_4 1,5 мкг/кг) — крысы с экспериментальным гипотиреозом, получавшие левотироксин в дозе 1,5 мкг/кг; 2 группа (T_4 1,5 мкг/кг + АМК) — крысы с экспериментальным гипотиреозом, получавшие левотироксин в дозе 1,5 мкг/кг и одновременно комплекс аминокислот (селенометионин — 30 мкг/кг, метионин — 25 мкг/кг, серин — 16 мкг/кг); 3 группа (T_4 1,0 мкг/кг + АМК) — крысы с экспериментальным гипотиреозом, получавшие левотироксин в дозе 1,0 мкг/кг и комплекс аминокислот такого же состава, как и во 2-ой группе; 4 группа (гипотиреоз) — животные с экспериментальным гипотиреозом; 5 группа (контроль введения препарата) — эутиреоидные крысы, получавшие на протяжении эксперимента внутривенно эквивалентную водную нагрузку.

Животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (60 мг/кг) забором крови из сонной артерии. В исследовании оценивали уровни тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3) в сыворотке крови крыс методом радиоиммунологического анализа. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени и мозге оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА) [6]. Определяли также активность супероксиддисмутазы (СОД) [4], каталазы [2], глутатионредуктазы (ГР) [9], глутатионпероксидазы (ГП) [3]. Статистическая обработка выполнена с помощью программного пакета Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. При применении для коррекции экспериментального гипотиреоза левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг уровни T_3 и T_4 в сыворотке крови увеличились на 90% и в 5,3 раза соответственно. Но содержание данных гормонов оставалось достоверно ниже уровня T_3 и T_4 в сыворотке крови группы контрольной группы крыс. При введении экспериментальным животным и левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг, и комплекса аминокислот в указанных выше дозах приводило к еще большему увеличению уровня T_3 , который составил 1,63 нмоль/л, что превышает контрольный уровень гормона у эутиреоидных животных; в то же время содержание T_4 уменьшилось на 7,3%. Последнее, предположительно, объясняется повышением активности дейодиназы в периферических тканях при введении в организм селеносодержащих аминокислот и превращением тироксина в более активный трийодтиронин. В рамках проводимого эксперимента нами была предпринята попытка снизить дозу T_4 до 1,0 мкг/кг для коррекции экспериментального гипотиреоза при одновременном введении в организм указанного

комплекса аминокислот. Нами было обнаружено, что при использовании T_4 в дозе 1,0 мкг/кг и комплекса аминокислот произошло наиболее полное восстановление содержания в сыворотке крови крыс гормонов щитовидной железы: уровень T_3 достоверно не отличался от такового во 2-й группе, а содержание тироксина достигло уровня в группе контрольных (эутиреоидных) крыс.

Содержание МДА (косвенно свидетельствующего об интенсивности процессов ПОЛ) в мозге гипотиреоидных крыс при введении им L-тироксина в дозе 1,5 мкг/кг составляло 157% по сравнению со значением аналогичного показателя в группе 4 и превышало уровень у контрольных животных на 15%. Указанные изменения не сопровождались адекватной активацией ферментов антиоксидантной защиты мозга крыс. При использовании для коррекции экспериментального гипотиреоза комплекса аминокислот вместе с L-тироксином как в дозе 1,5 мкг/кг, так и в дозе 1,0 мкг/кг также наблюдалось увеличение содержания МДА по сравнению с уровнем данного показателя у гипотиреоидных животных (группа 4), однако, оно находилось в пределах значений у контрольных животных. Кроме того, в группе 2 отмечалось увеличение по сравнению с группой 4 активности каталазы на 70%, ГП — на 25%. Применение для коррекции экспериментального гипотиреоза у крыс комплекса аминокислот и L-тироксина в дозе 1,0 мкг/кг сопровождалось восстановлением активностей всех исследованных ферментов антиоксидантной системы мозга крыс до контрольных уровней. Уровень МДА в печени животных с гипотиреозом при введении им левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг составлял 128% от уровня данного показателя у животных группы 4. Указанные изменения наблюдались на фоне активации СОД на 68%, каталазы — на 65%, ГР — на 76%. При использовании для коррекции экспериментального гипотиреоза комплекса аминокислот и L-тироксина в дозе 1,5 мкг/кг отмечалось увеличение содержания МДА на 50% по сравнению с уровнем его у крыс группы 4. Но уменьшение дозы левотироксина до 1,0 мкг/кг приводило к нормализации данного показателя. В группах животных 2 и 3 выявлены однонаправленные изменения активности ферментов антиоксидантной защиты печени, а активность всех исследованных ферментов возрастает у животных 3-й группы по сравнению со второй.

Заключение

1. Использование для коррекции экспериментального гипотиреоза у крыс левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг не приводило к нормализации уровней T_3 и T_4 .

2. При комбинированном использовании аминокислот (селенометионин — 30 мкг/кг, метионин — 25 мкг/кг, серин — 16 мкг/кг) и левотироксина как в дозе 1,5 мкг/кг, так и в дозе 1,0 мкг/кг уровни гормонов щитовидной железы достигали значений в группе контроля.

3. Применение для коррекции экспериментального гипотиреоза указанных комплексов препаратов сопровождалось нормализацией активности ферментов антиоксидантной защиты в мозге и печени крыс.

Суммируя полученные данные, можно сделать вывод о том, что использование для коррекции экспериментального гипотиреоза у крыс L-тироксина совместно с аминокислотами (селенометионин — 30 мкг/кг, метионин — 25 мкг/кг, серин — 16 мкг/кг) целесообразно и позволяет снизить дозу левотироксина, необходимую для нормализации тироидного статуса, на 34%.

Список литературы

1. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. Е.Н. Живописцевой. М.: Высшая школа, 1991. 399 с.

2. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16-19.

3. Моин В.И. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. 1986. № 12. С. 724-727.

4. Чумаков В.Н., Осинская Л.Ф. Количественный метод определения активности цинк-, медь-зависимой супероксиддисмутазы в биологическом материале // Вопросы медицинской химии. 1977. Т. 23. № 5. С. 712-716.

5. Щитовидная железа /под ред. А.И. Кубарко. Минск-Нагасаки, 1998. 368 с.

6. Asakawa T. Coloring conditions of thiobarbituric acid test, for detecting lipid hydroperoxides // Lipids. 1980. Vol. 15. P. 137-140.

7. Guidelines for the Treatment of Hypothyroidism: Prepared by the American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement / Jonklaas J. // Thyroid. 2014. Vol. 24 (12). P. 1670-1751.

8. Selenium supplementation could restore euthyroidism in subclinical hypothyroid patients with autoimmune thyroiditis / Pirola I. [et al.] // Endokrynol Pol. 2016. Vol. 67(6). P. 567-571.

9. Wendell P.Z. Distribution of glutathione reductase and detection of glutathione-cystine transhydrogenase in rat tissues // Biochim. Biophys. Acta. 1968. Vol. 159, N 1. P. 179-181.

Жерегеля С.Н., Глушков С.И.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет» Минздрава России
Санкт-Петербург
sgeregely@bk.ru

**ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ВОССТАНОВЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА
В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ, ПОЧЕК И ЭРИТРОЦИТАХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ
РЕНТГЕНОКОНТРАСТНЫХ ВЕЩЕСТВ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП**

С целью сравнения действия неионного контрастного вещества «омнипак-350» и ионного вещества «гипак-76» проведена оценка влияния препаратов на динамику изменений содержания восстановленного глутатиона в различных тканях экспериментальных животных.

Ключевые слова: восстановленный глутатион, омнипак, гипак, рентгеноконтрастные вещества.

Zheregelya S.N., Glushkov S.I.

St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg

**DYNAMICS OF THE CONCENTRATION OF REDUCED GLUTATHIONE IN
THE TISSUES OF THE LIVER, KIDNEYS AND ERYTHROCYTES OF
EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER THE INTRODUCTION OF
RADIOPAQUE SUBSTANCES OF VARIOUS GROUPS**

In order to compare the effect of the non-ionic contrast agent "omnipac-350" and the ionic substance "hypac-76", the effect of the drugs on the dynamics of changes in the content of reduced glutathione in various tissues of experimental animals was evaluated.

Key words: reduced glutathione, omnipac, hypac, radiopaque substances.

Активные формы кислорода (АФК), нарабатываемые тканями почек в условиях гипоксии, вызванной введением больших доз рентгеноконтрастных препаратов, могут усиливать прямое повреждение эндотелия канальцев и сосудов и явиться дополнительным фактором дисфункции эндотелия и нарушений регуляции канальцевого транспорта [1, 2]. Системе глутатиона принадлежит роль основной клеточной антиоксидантной системы, которая поддерживает окислительно-восстановительный баланс [3]. Глутатион широко распространен в клетках и существует в формах восстановленного глутатиона (GSH) и окисленного глутатиона (дисульфид глу-

татиона (GSSG)). Восстановленный глутатион преимущественно распределяется в цитозоле и в меньшей степени в субклеточных органеллах, таких как митохондрии, ядро и эндоплазматический ретикулум. Он принимает участие во многих клеточных метаболических процессах, включая удаление АФК [4].

Для изучения динамики изменений концентрации восстановленного глутатиона в тканях животных было использовано два рентгеноконтрастных препарата из разных групп:

1) неионный — «омнипак-350» (йогексол) — водный раствор N,N-бис(2,3-дигидроксипропил)-5-[N-(2,3-дигидроксипропил) ацетамид 2,4,6-трийодизоталамида («Nicomed», Норвегия);

2) ионный — «гипак-76» (диатризоат меглумина и диатризоат натрия) — водный раствор натриевой соли 3,5-бис(ацетиламино)-2,4,6-трийодобензойной кислоты с меглуминовой солью («Nicomed», Норвегия).

Препараты вводились белым беспородным крысам в средне-смертельной дозе (LD₅₀), которая составила для омнипак-350 — 20 г/кг массы тела животного и 16 г/кг для гипака-76. Определение концентрации восстановленного глутатиона проводили на 1, 3 и 5 сутки после введения препаратов в гомогенатах тканей почек, печени и в эритроцитах животных. Для сравнения изменений, происходящих в тканях на каждом из установленных сроков, оценивались соответствующие показатели у контрольных животных.

Концентрацию восстановленного глутатиона в гомогенатах исследуемых тканей и в гемолизате эритроцитов определяли с использованием 5,5'-ди-тио-бис(-2-нитробензойной) кислоты (ДТНБ) по методике G.L. Ellman [5] в модификации С.И. Глушкова [6]. Принцип метода основан на образовании при взаимодействии ДТНБ (реактива Элмана) с кислоторастворимыми тиоловыми группами окрашенного продукта — 5-тио,2-нитробензойной кислоты (ТНБ), имеющего максимум поглощения на длине волны 412 нм. Содержание восстановленного глутатиона рассчитывали по калибровочной кривой и выражали в мкмоль/г ткани или мкмоль/г гемоглобина.

Проведенное исследование позволило определить основные тенденции изменений уровня восстановленного глутатиона в тканях и клетках крови, которые указывали как на наличие компенсаторных механизмов у системы обмена глутатиона, так и на возможность декомпенсации изучаемой системы.

Введение РКС различных групп не вызывало достоверных изменений концентрации ВГ в эритроцитах экспериментальных животных (табл. 1, 2).

Таблица 1. Изменения концентрации восстановленного глутатиона в тканях различных органов белых беспородных крыс при введении ионного РКС в суточной дозе 160 мг/кг (ммоль/г ткани или мкмоль/г гемоглобина)

Группа исследования	Сроки исследования, сут	Исследуемый орган		
		эритроциты	почки	печень
Контроль		6,37±0,31	7,31± 0,78	12,46 ±1,42
Гипак LD ₅₀	1	7,58±0,76	6,56± 0,77	8,59± 0,24
	3	6,85±0,88	6,62± 0,24	9,88± 1,04
	5	7,58±0,47	5,50± 0,58	14,21± 0,73

* Достоверность различий по сравнению с группой контроля $p < 0,05$.

Таблица 2. Изменения концентрации восстановленного глутатиона в тканях различных органов белых беспородных крыс при введении неионного РКС в суточной дозе 200 мг/кг (ммоль/г ткани или мкмоль/г гемоглобина)

Группа исследования	Сроки исследования, сут	Исследуемый орган		
		эритроциты	почки	печень
Контроль		6,46±0,78	7,44± 0,30	10,03± 0,56
Омнипак LD ₅₀	1	6,05±0,45	7,37± 0,35	10,99± 1,26
	3	6,62±0,73	6,82± 0,14	10,00± 1,05
	5	7,39±0,62	6,93± 0,16	10,21± 1,00

* Достоверность различий по сравнению с группой контроля $p < 0,05$.

В тканях печени при введении гипака-76 отмечалось стойкое снижение концентрации ВГ в 1-е и 3-и сутки на 31,1% и 20,7%, соответственно, ниже показателей контроля с последующим восстановлением до контрольных значений на 5-е сутки (табл. 1, 2). В то же время использование омнипака-350 не сопровождалось достоверными сдвигами концентрации ВГ в тканях этого органа.

Применение гипака-76 вызывало снижение концентрации восстановленной формы трипептида в тканях почек с максимумом на 5-е сутки исследования (на 26,1% ниже уровня контроля), а после

введения неионного рентгеноконтрастного препарата достоверных изменений данного биохимического показателя на протяжении всего эксперимента не наблюдалось.

Таким образом, влияние рентгеноконтрастных препаратов на уровень восстановленного глутатиона в различных тканях сводится к следующим изменениям:

- отсутствие достоверного снижения концентрации восстановленного глутатиона в клетках крови;
- умеренное снижение уровня восстановленного глутатиона в печени и почках при использовании ионного РКС, при отсутствии изменений на фоне применения неионного препарата.

С учетом того, что уровень восстановленного глутатиона в клетках уже является интегральным показателем обмена глутатиона, можно говорить, что введение ионных рентгеноконтрастных препаратов истощает адаптационные возможности системы антирадикальной защиты. Однако механизмы нарушений этой системы можно определить лишь при более глубоком изучении всех ее звеньев.

Список литературы

1. Heyman S.N., Rosen S., Khamaisi M., Idée J., Rosenberger C. Reactive oxygen species and the pathogenesis of radiocontrast-induced nephropathy // *Investigative Radiology*. 2010. 45(4):188–195.
2. Dawson P., Harrison M.J.G., Weisblatt E. Effect of contrast media on red cell filtrability and morphology // *The British Journal of Radiology*. 1983. 56(670):707–710.
3. Circu M.L., Aw T.Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis // *Free Radical Biology and Medicine*. 2010;48(6):749–762. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.022.
4. Wu G., Fang Y. Z., Yang S., Lupton J. R., Turner N. D. Glutathione metabolism and its implications for health // *The Journal of Nutrition*. 2004;134(3):489–492. DOI:10.1093/jn/134.3.489.
5. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys*. 1959;82(1):70–77.
6. Глушков С.И. Нарушения системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия: дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.20, 03.00.04 / С.И. Глушков; Воен.-мед. акад. СПб, 2006. 451 с.

УДК 577.151:611-013.11]:616.697

**Иштулин А.Ф., Короткова Н.В., Матвеева И.В.,
Минаев И.В., Полякова П.М.**

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
Рязань

*a.ishtulin@yandex.ru, fnv8@yandex.ru, i.matveeva@rzgmu.ru,
ivan.minaev98@yandex.ru, pelageia18@gmail.com*

ЗАВИСИМОСТЬ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ОТ АКТИВНОСТИ КАТЕПСИНОВ В И L У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ

Статья посвящена изучению активности катепсинов В и L и их связи с подвижностью сперматозоидов у пациентов с диагнозом хронический простатит, астенозооспермия, сопровождающихся бесплодием.

Ключевые слова: катепсины, мужское бесплодие, астенозооспермия, хронический простатит.

***Ishtulin A.F., Korotkova N.V., Matveeva I.V.,
Minaev I.V., Polyakiva P.M.***

Ryazan State Medical University named after acad. I.P. Pavlov
Ryazan

THE DEPENDENCE OF SPERM MOTILITY FROM THE CATHEPSINS B AND L ACTIVITY IN MEN WITH INFERTILITY

The article is devoted to the study of the activity of cathepsins B and L and their relationship with motility of spermatozoons in patients with chronic prostatitis, asthenozoospermia, accompanied by infertility.

Key words: cathepsins, male infertility, asthenozoospermia, chronic prostatitis.

Введение. Ферменты являются важными диагностическими маркерами патологии человека, и определение их активности проводят в различных биологических жидкостях человека. В таких физиологических процессах, как пищеварение, свертывание крови, сперматогенез и многих других принимают участие катепсины [1]. Катепсины относятся к группе протеолитических ферментов, в активном центре которых присутствуют остатки цистеина, серина и аспарагиновой кислоты [1].

Цистеиновые катепсины содержатся в лизосомах и принимают участие во внутриклеточном обмене белков, разрушая внутренние пептидные связи [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение взаимосвязи активности катепсинов В и L, содержащихся в акросоме сперматозоидов, с подвижностью последних, и возможности использования активности указанных катепсинов в качестве диагностических маркеров нарушения репродуктивной функции мужчин. Частота бесплодных браков в настоящее время составляет 10–15%, причем 23,9% из них связано именно с мужским фактором [3]. Отклонения в спермограмме встречаются в 22,7% случаев и являются самой распространенной причиной мужского бесплодия, что требует внедрения новых биохимических тестов для выявления нарушения репродуктивной функции мужчин [4, 5].

Материалы и методы. Объектом исследования явились 25 пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией, в возрасте 20-35 лет проходившие обследование в клинико-диагностической лаборатории ГБУ РО «ГКБ № 8» в 2021 году.

Группу контроля составили аналогичное количество здоровых мужчин с нормозооспермией, сопоставимых по возрасту с исследуемой группой.

В качестве материала для исследования использовалась спермоплазма, являющаяся смесью секретов добавочных половых желез [6]. Сперма была получена пациентами в стеклянную посуду методом мастурбации непосредственно в лаборатории ГБУ РО «ГКБ № 8». Для получения спермоплазмы образец спермы, оставшийся после проведения семиологического анализа, центрифугировали в течение 10 мин при скорости 1000 об/мин. Осадок отделяли и хранили спермоплазму при температуре — 20°C до проведения анализа [7].

В спермоплазме определяли активность катепсинов В и L с помощью спектрофлуориметра RF-6000 с определением флюоресцирующего продукта 7-амидо-4-метилкумарина, который образуется при расщеплении специфических флюорогенных субстратов [8].

Подвижность сперматозоидов определяли на спермоанализаторе АФС-500-2. Перед изучением спермограммы проводили макроскопическое исследование: объем, разжижение, вязкость, цвет, мутность, слизь. Затем исследуемый материал помещали в камеру прибора. Образец тщательно перемешивали, избегая образования пузырьков, и проводили автоматическое исследование спермограммы.

Полученные данные статистически обрабатывали с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel 2016 и Statistica 26.0.

Исследование одобрено на заседании ЛЭК ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России от 11 мая 2021 года. Выписка из протокола № 11.

Результаты. В результате проведенных исследований было выявлено снижение активности катепсинов В и L в спермоплазме пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией по сравнению со здоровыми мужчинами с нормозооспермией. Снижение явилось статистически значимым для катепсинов В и L.

Также была выявлена корреляционная взаимосвязь средней силы между подвижностью сперматозоидов и активностью катепсинов В и L у пациентов с хроническим простатитом, что оказалось статистически значимым по сравнению с пациентами с нормозооспермией (табл. 1). Таким образом, хронический простатит и астенозооспермия сопровождаются снижением активности катепсинов В и L в спермоплазме. Для катепсина В корреляционная взаимосвязь ($r=0,54$), а для катепсина L ($r=0,55$).

Таблица 1. Показатели активности катепсинов В и L в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом

Группа	Активность катепсина В, нмоль/чхл	Активность катепсина L, нмоль/чхл	Подвижность сперматозоидов
Контрольная группа, n=25	0,74	0,78	71%
Группа 1 (пациенты с хроническим простатитом), n=25	0,21*	0,22*	12%
<i>Примечание.</i> Статистически значимые отличия от контрольной группы ($p<0,05$).			

В результате проведенных исследований было отмечено снижение активности катепсинов В и L в спермоплазме параллельно со снижением подвижности сперматозоидов у пациентов с хроническим простатитом, астенозооспермией.

В спермоплазме содержится большое количество белков и ферментов, секретируемых предстательной железой и семенными пузырьками, таких как акрозин, гиалуронидаза, гликозидазы, липазы, фосфатазы, нейраминидаза. В настоящее время известно, что акрозин и гиалуронидаза принимают участие в процессе оплодотворения путем акросомальной реакции, то есть доставки содержимого акросомы для локального разрушения оболочки яйцеклетки. Акро-

сома — это видоизмененная лизосома, в которой также присутствуют лизосомальные цистеиновые протеиназы — катепсины В и L. В научной литературе описано что у мужчин, страдающих бесплодием, активность акрозина снижается по сравнению с фертильными мужчинами. Акрозин способствует связыванию сперматозоидов с zona pellucida [9, 10].

Настоящее исследование показало, что активность катепсинов В и L в спермоплазме пациентов, страдающих хроническим простатитом и астенозооспермией, снижается. В связи с вышеизложенным можно предположить, что катепсины В и L также принимают участие в оплодотворении яйцеклетки, и снижение их активности, возможно, сопровождается патологиями, связанные с нарушением процесса оплодотворения.

Выводы

1. У пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией отмечается снижение активности катепсинов В и L в спермоплазме.

2. Выявлена положительная корреляционная связь средней силы между подвижностью сперматозоидов и активностью катепсинов В и L у пациентов с хроническим простатитом.

3. У пациентов с нормозооспермией снижения активности катепсинов В и L не отмечается.

Список литературы

1. Patel S., Homaei A., El-Seedi H.R., Akhtar N. Cathepsins: Proteases that are vital for survival but can also be fatal. *Biomedicine et Pharmacotherapy*. 2018. Vol. 105. P. 526–532. doi: 10.1016/j.biopha.2018.05.148.

2. Fonović M., Turk B. Cysteine cathepsins and extracellular matrix degradation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2014. 1840 (8), 2560–2570. doi:10.1016/j.bbagen.2014.03.017.

3. Tamrakar S.R., Bastakoti R. (2019). Determinants of Infertility in Couples. 17(1):85-89. doi: 10.33314/jnhrc.1827.

4. Fainberg J., Kashanian J.A. Recent advances in understanding and managing male infertility. 2019. Vol.8. P. 1000. *Faculty Rev*-670 doi: 10.12688/f1000research.17076.1.

5. Leaver R.B. Male infertility: an overview of causes and treatment options. *British Journal of Nursing*. 2016. 25(18), P. 35–40. doi:10.12968/bjon.2016.25.18.s 35.

6. Долгов В.В. и др. Лабораторная диагностика мужского бесплодия; М-во здравоохранения и соц. развития Рос. Федерации,

Рос. мед. акад. последиплом. образования. Москва; Каф. КЛД: Три-ада, 2006 (Тверь: Тверская ф-ка печати). С. 5-6, 129-130.

7. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. 5-е издание. Москва, КАПИТАЛ ПРИНТ, 2012. 305 с.

8. Barrett A.J. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L, / A.J. Barrett, H. Kirschke // Methods in Enzymol. 1981. Vol.80. P. 535-561.

9. Kennedy WP, Vander Ven HH, Straus JW et al. (1983): Grossypol inhibition of acrosin and proacrosin, and oocyte penetration by human spermatozoa. Biol Reprod 29. P. 999-1009.

10. Vander Ven H.H., Kaminski J., Bauer L., Zaneveld LJD (1985): Inhibition of human sperm penetration into zonafree hamster oocytes by proteinase inhibitors. Fertil Steril 43. P. 609-616.

УДК 547.789.13: 547.834.22

Киндоп В.К., Беспалов А.В., Доценко В.В.

Кубанский государственный университет

Краснодар

Slavakindop@mail.ru, bespalov-alex@mail.ru,

victor_dotsenko_@mail.ru

**СИНТЕЗ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN SILICO*
БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ
2-ИМИНОТИАЗОЛИН-ТИЕНО[2,3-В]ПИРИДИН
ГИБРИДНЫХ МОЛЕКУЛ**

Выполнено исследование реакционной способности альфа-роданокарбонильных соединений и соединений, полученных на их основе, определение *in silico* возможной биологической активности целевых молекул.

Ключевые слова: альфа-роданокарбонильные соединения, иминотиазолины, ацилирование, цианотиоацетамид, циклизация по торпу-циглеру, молекулярный докинг.

Kindop V.K., Bepalov A.V., Dotsenko V.V.

Kuban State University

Krasnodar

**ON SYNTHESIS AND DETERMINATION *IN SILICO* OF THE BIOLOGICAL
ACTIVITY OF NEW 2-IMINOTHIAZOLINE-THIENO[2,3-B]PYRIDINE
HYBRID MOLECULES**

Investigation of the reactivity of α -thiocyanocarbonyl compounds and compounds derived from them, determination *in silico* of the possible biological activity of the target molecules.

Key words: α -роданокарбонильных соединений, аминотиазолин, the acylation, cyanothioacetamide, cyclization via the thorp-ziegler, molecular docking.

Известно, что реакции α -роданокарбонильных соединений с аминами — в частности, реакции фенацилроданида **1** с замещенными анилинами в присутствии кислотного катализатора — приводят к образованию замещенных производных тиазолин-2-имина **2** [1, 2].

Целью работы является синтез полигетероциклических ансамблей, содержащих иминотиазолиновый и тиенопиридиновый фрагменты и их исследование, в том числе расчетными методами, на возможную биологическую активность.

Исходя из легкодоступного альфа-роданокетона **1**, нами были синтезированы иминотиазолины **2** и новые N-(хлорацетил)иминотиазолины **3** (схема 1). Последние могут представлять интерес как реагенты для тонкого органического синтеза, а также как перспективные агрохимикаты либо их предшественники.

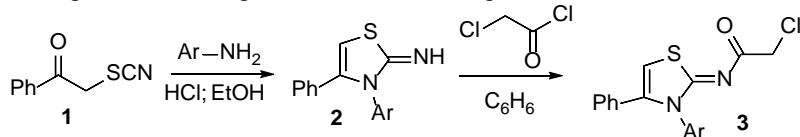


Схема 1.

Далее полученные соединения были введены в реакцию с различными 3-цианопиридин-2(1H)-тионами **4** в присутствии оснований.

В результате были получены ранее не описанные продукты прямого S-алкилирования **5** с высокими выходами (85-96%) (схема 2).

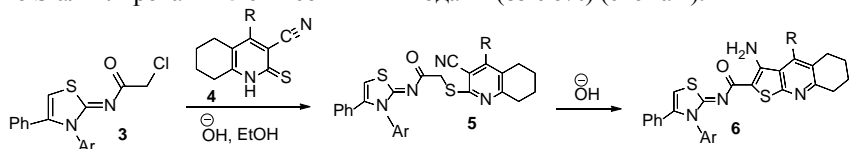


Схема 2.

Добавление второго эквивалента основания и последующее небольшое нагревание реакционной смеси приводит к циклизации по Торпу-Циглеру и образованию ранее не описанных [3] производных тиено[2,3-*b*]пиридина **6** (схема 2), в структуре которых также содержится ядро тиазолина. Это вероятно может повышать их фармакологический потенциал, поскольку генерирование фарма-

кофорного тиенопиридинового фрагмента приводит к большей вариативности направлений модификации, а также к росту способности связываться с более широким кругом рецепторов.

Строение полученных соединений подтверждено комплексом спектральных данных, а именно данными ЯМР-спектроскопии на ядрах ^1H и ^{13}C , результатами ИК-спектрофотометрии и рентгеноструктурного анализа (рис. 1).

Для осуществления нашей цели по исследованию возможной биологической активности полученных соединений нами были спрогнозированы возможные протеиновые мишени. Для решения данной задачи нами был использован новый протокол протеин-лигандного докинга GalaxyWeb Sagittarius. Докинг с использованием протокола GalaxyWeb Sagittarius проводился в режимах Binding compatibility prediction и Re-ranking using docking.

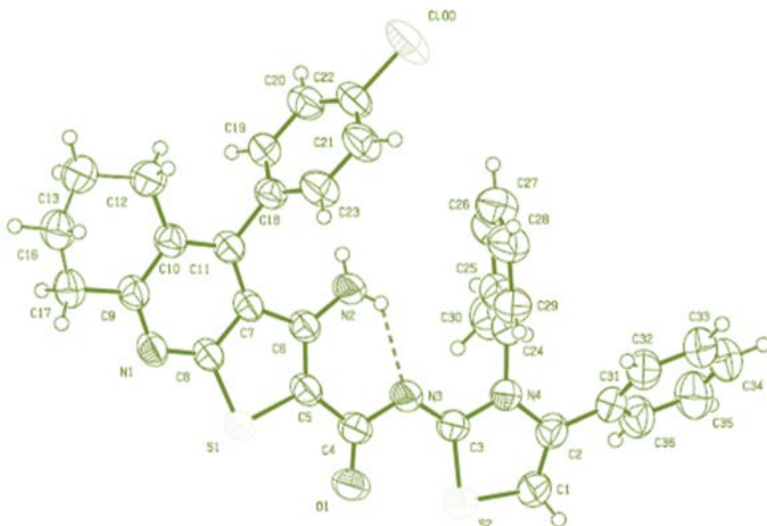


Рис. 1. Результаты рентгеноструктурного анализа для соединения **6a**

Возможные протеиновые мишени отмечены с помощью ID-идентификаторов в Protein Data Bank (PDB). Полученные соединения обнаруживают сродство к широкой группе белков (табл. 1).

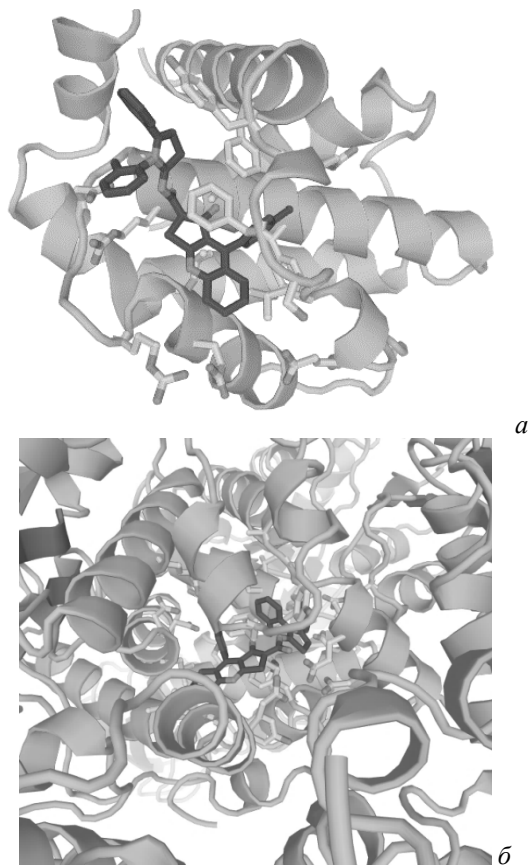
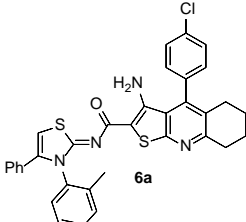


Рис. 2. Модели связывания соединения **6a** с активными сайтами белков человека (*a* — 3ZLO, *б* — 3H6O)

Таблица 1. Результаты прогнозирования протеин-лигандного связывания

Структура	PDB ID	Predock score	Docking score	Score
 <p>6a</p>	3ZLO	0.574	-29.053	0.864
	4lvt	0.370	-23.932	0.609
	3H6O	0.063	-36.340	0.426

Как можно заметить, для данного соединения наиболее выражено средство к белкам — активаторам апоптоза (3ZLO, 4LVT) и активаторам человеческой пируваткиназы M2 (3H6O).

Список литературы

1. Sondhi S.M., Johar M., Singh N. Synthesis of bis-coupled hemin-thiazoline derivatives and their anticancer activity evaluation // *Indian Journal of Chemistry*. 2004. № 43B. P. 175–260.
2. Beyer H., Ruhlig G. Über Thiazole, XXVI. Mitteil. Die Synthese von 3-substituierten Thiazolon-(2)-imiden aus α -Rhodanketonen // *Chemische Berichte*. 1956. Vol. 1. № 89. P. 107–114.
3. Litvinov V.P., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. Thienopyridines: synthesis, properties, and biological activity // *Russian chemical bulletin*. 2005. Vol. 54. № 4. P. 864–904.

УДК 616.36-004:[577.215]

Лебедева Е.И.¹, Бабенко А.С.², Щастный А.Т.¹

¹Витебский государственный медицинский университет
Витебск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет
Минск, Республика Беларусь
lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МРНК ГЕНА *nos2* В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ФИБРОГЕНЕЗЕ

Фиброгенез печени у крыс Wistar индуцировали тиоацетамидом в течение 17 нед. Уровень экспрессии мРНК гена *nos2* изучали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Степень фиброза оценивали с использованием полуколичественной шкалы Ishak K.G. Анализ динамики экспрессии мРНК гена *nos2* показал несущественные ее колебания. В период трансформации фиброза в цирроз наблюдали увеличение нормализованного уровня мРНК *nos2* на 69%. В то время на стадии достоверного цирроза отмечалось его падение на 22%. Максимальное колебание уровня мРНК гена *nos2* составило 91%, что с высокой долей вероятности говорит о минимальном вкладе гена *nos2* на уровне зрелых мРНК в развитие патологических процессов, связанных с фиброзом и циррозом печени у крыс.

Ключевые слова: крысы, тиоацетамид, фиброгенез печени, ген *nos2*.

Lebedeva E.I.¹, Babenka A.S.², Shchastniy A.T.¹

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,
Vitebsk, Republic of Belarus

²Belarussian State Medical University
Minsk, Republic of Belarus

CHANGES IN *nos2* mRNA EXPRESSION DURING INDUCED FIBROGENESIS IN RAT LIVER

Liver fibrogenesis in Wistar rats was induced with thioacetamide for 17 weeks. The expression level of *nos2* mRNA was studied by real-time polymerase chain reaction. The degree of fibrosis was assessed using the Ishak K.G. Analysis of the dynamics of *nos2* expression showed insignificant fluctuations. During the transformation of fibrosis into cirrhosis, an increase in the normalized level of *nos2* mRNA by 69% was observed. While at the stage of reliable cirrhosis, it fell by 22%. The maximum variation in *nos2* expression was 91%, which most likely indicates

a minimal contribution of the *nos2* gene at the level of mature mRNA to the development of pathological processes associated with liver fibrosis and cirrhosis in rats.

Key words: rats, thioacetamide, liver fibrogenesis, *nos2* gene.

Введение. В организме млекопитающих образование эндогенного, короткоживущего газа оксида азота (NO) катализирует группа ферментов NO-синтазы (NOS). NO играет ключевую роль как в физиологических, так и в различных патологических процессах [1, 2]. Идентифицированы три гена (*nos1*, *nos2*, *nos3*), кодирующие соответствующие изоформы NOS (две конститутивных: нейрональная форма nNOS/NOS1 и эндотелиальная форма eNOS/NOS3, одну индуцибельную iNOS/NOS2) [1, 3].

Известно, что ген *nos2* преимущественно экспрессируется в макрофагах. Клетки Купфера печени обладают свойством пластичности, изменяя свой фенотип и функции в ответ на сигналы микроокружения. Пластичность позволяет клеткам Купфера приобретать широкий спектр функций от провоспалительных (M1, или классически активированные макрофаги) до противовоспалительных (M2, или альтернативно активированные макрофаги). M1 фенотип клеток Купфера характеризуется повышенной экспрессией индуцибельной NO-синтазы (iNOS), активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов, фактора некроза опухолей альфа, интерферона гамма. M2 фенотип клеток Купфера демонстрирует низкую экспрессию провоспалительных цитокинов, но повышенную экспрессию противовоспалительных медиаторов, трансформирующего фактора роста- β , матриксных металлопротеиназ-9, -12, -13, фактора роста эндотелия сосудов, аргиназы-1 и ряда хемокинов [4, 5, 6, 7].

Получение новых данных о функциональной активности популяции макрофагов позволит лучше понять их роль в патогенезе фиброза печени, а возможность их активации по противовоспалительному M2 пути может быть использована в терапевтических целях.

По имеющимся в настоящее время научным данным сложно сделать однозначный вывод о степени вовлечения гена *nos2* и соответствующего белка в развитие патологических процессов в тканях печени [3, 7, 8, 9].

Цель настоящего исследования заключалась в изучении изменений уровня мРНК гена *nos2*, как самостоятельного параметра без привязки к белку, в ответ на развитие фиброза и последующего цирроза тканей печени у крыс.

Материал и методы исследования. В эксперименте использовали 117 половозрелых крыс-самцов Wistar весом от 190-210 г. Фиброгенез печени у животных индуцировали раствором тиацетамида (ТАА), который вводили в желудок с помощью зонда в дозе 200 мг/кг массы тела животного 2 раза в нед за 3 часа до кормления в течение 17 нед. Животных рандомизировали на 9 групп по 12 особей в каждой (m0 — контрольная, m1 — длительность воздействия тиацетамидом 3 нед, m2 — длительность воздействия тиацетамидом 5 нед, m3 — длительность воздействия тиацетамидом 7 нед, m4 — длительность воздействия тиацетамидом 9 нед, m5 — длительность воздействия тиацетамидом 11 нед, m6 — длительность воздействия тиацетамидом 13 нед, m7 — длительность воздействия тиацетамидом 15 нед, m8 — длительность воздействия тиацетамидом 17 нед). Опытных крыс выводили из эксперимента через 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и 17 нед, а интактных — по окончании эксперимента. Дизайн эксперимента был одобрен на заседании Комиссии по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными при учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (протокол № 6 от 03.01.2019).

Забор биологического материала проводили непосредственно после декапитации животного. Скальпелем из большой левой доли печени крыс забирали фрагмент нативной ткани диаметром не более 5 мм. После забора образцы помещали в криобирки и далее в жидкий азот для транспортировки и хранения непосредственно до начала процедуры выделения РНК.

Выделение суммарной РНК проводили с помощью набора реагентов «АртРНК MiniSpin» (ООО «АртБиоТех», Беларусь) согласно протоколу производителя. Синтез кДНК проводили с использованием олиго дТ праймеров и набора реагентов ArtMMLV Total (ООО «АртБиоТех», Беларусь) в соответствии с инструкцией производителя. Для дизайна специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченых зондов использовали данные о последовательностях мРНК генов депонированные в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>). В качестве референсных генов для оценки относительного уровня экспрессии на основании данных литературы были выбраны: Prl3d1, Sdha, Hprt1 и Hes1.

В случае наличия нескольких альтернативных сплайс вариантов мРНК перед началом дизайна проводили их выравнивание с помощью бесплатного программного пакета Ugene v.33 (UniPro, Россия). Для дизайна использовали консервативные участки последо-

вательности мРНК с соблюдением правила о размещении одного или более олигонуклеотидов в месте соединения 2 разных экзонов.

Последовательности олигонуклеотидов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Последовательности специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченых зондов

Название олигонуклеотида	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'	Метка, 5'	Метка, 3'
hprtF	GGACAGGACTGAAAGACTTGCT		
hprtR	ACAGAGGGCCACAATGTGAT		
hprtP	CATGAAGGAGATGGGAGGCC	FAM	BHQ1
priF	CCTTATACAACAGGACTCAGGCTA		
priR	ACTGCAAGTCTTTGAGTCCAGA		
priP	GAAAATTTTGA CTACCCTGCCTGG	FAM	BHQ1
sdhaF	CCCACAGGTATCTATGGTGCT		
sdhaR	TTGGCTGTTGATGAGAATGC		
sdhaP	CATCACAGAAGGGTGCCGTG	FAM	BHQ1
hes1F	GAAAGATAGCTCCCGGCATT		
hes1R	CGGAGGTGCTTCACTGTCAT		
hes1P	CCAAGCTGGAGAAGGCAGACA	FAM	BHQ1
nos2_F	TCACCCAGTTGTGCATCG		
nos2_R	AGGACCAGAGGCAGCACAT		
nos2_P	GGCTGGAAGCCCCGCTAT	FAM	BHQ1

Для проведения ПЦР-РВ использовали реагенты производства ОДО «Праймтех», Беларусь. Конечный объем реакционной смеси составлял 25 мкл и содержал все необходимые компоненты в следующих концентрациях: 2 мМ хлорида магния, 0,1 мМ смеси дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, 500 нМ олигонуклеотидов, включая зонд для ПЦР-РВ, 1,25 ед. термостабильной Taq ДНК-полимеразы с соответствующим буферным раствором.

Режим термоциклирования: +95°C — 2 минуты, затем 40 циклов: +95°C — 5 сек, +60°C — 45 сек. Детекция по каналу FAM по-

сле каждого цикла. В работе использовали оборудование производства компании BioRad (прибор CFX96touch, США). Критерием успешной оптимизации считали наименьший показатель цикла амплификации. Эффективность реакций определяли с помощью метода стандартной кривой и серий разведений, концентрированных образцов кДНК. Шаг 5 раз. Все реакции проводили в триплетах. В каждой группе все 12 образцов (животных) анализировали отдельно для получения наибольшей достоверности и учета внутригрупповой вариации, фенотипической гетерогенности уровня экспрессии генов.

Стабильность уровня мРНК генов оценивали с использованием показателя стандартного отклонения, а также алгоритмов BestKeeper, NormFinder и geNorm в рамках бесплатного онлайн приложения RefFinder (<https://www.heartcure.com.au/reffinder/>).

Для проведения морфологического исследования образцы печени фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина на фосфатном буфере в течение 24 часов. Морфологический анализ гистологических препаратов, окрашенных по методу Маллори проводили с использованием микроскопа OLYMPUS BX51. С помощью компьютерных программ анализа изображений ImageScope Color и cellSens Standard измеряли площадь соединительной ткани в процентах к общей площади среза. Степень фиброза оценивали с использованием полуколичественной шкалы Ishak K.G.

Результаты и их обсуждение. При микроскопическом изучении гистологических препаратов печени крыс контрольной группы морфология паренхимы органа соответствовала критериям нормы, а анализ печени опытных животных показал развитие фиброза печени с трансформацией в цирроз.

Изучение экспрессии мРНК гена *pos2* выявила, что в точке исследования m0, а также через 3 нед эксперимента — точка m1 (соответствует F1 согласно балльной оценке степени фиброза печени по шкале Ishak K.G., рис. 1) уровень оставался стабильным и/или изменялся в пределах погрешности измерения (менее 5%).

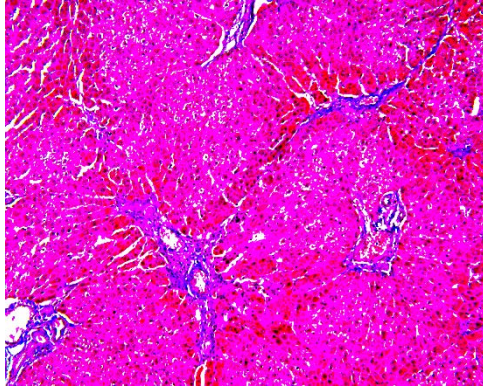


Рис. 1. Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом через 3 нед после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увел. об. 20×

При этом, начиная с точки m2 (через 5 нед эксперимента) и далее до точки m4 (через 9 нед эксперимента) наблюдался незначительный рост — максимально на 69% от изначального. После 11 нед эксперимента в точке m5 (соответствует F5 — период трансформации фиброза в цирроз, согласно балльной оценке степени фиброза печени по шкале Ishak K.G., рис. 2) уровень мРНК гена *pos2* стал снижаться.

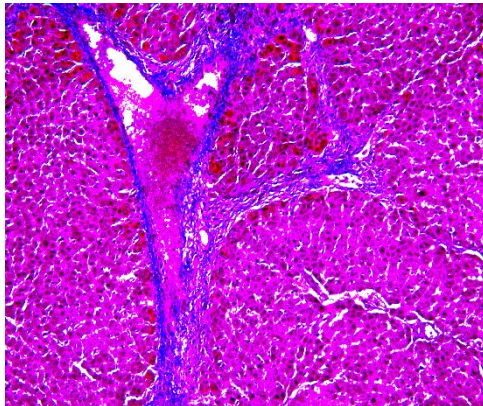


Рис. 2. Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом через 9 нед после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увел. об. 20×

На более поздних стадиях при достоверном циррозе (рис. 3) уровень мРНК гена *pos2* снизился на 22% от изначального. Макси-

мальное колебание уровня мРНК отмечено между точками максимума (m4) и минимума (m8) и составило 91%.

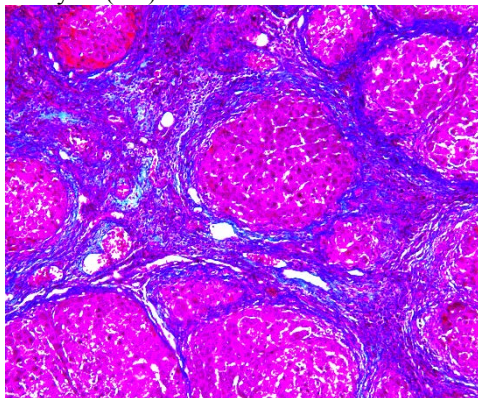


Рис. 3. Гистологический препарат печени крысы с индуцированным циррозом через 17 нед после начала эксперимента. Окраска по методу Маллори. Увел. об. 20×

Выводы. Согласно полученным нами данным на всех стадиях развития фиброза наблюдается повышение уровня мРНК гена *pos2*. В целом это согласуется с данными литературы [2, 8]. Однако мы не можем сделать однозначного вывода о роли уровня мРНК гена *pos2* самого по себе в ответе ткани печени крысы на экспериментальное воздействие и индукцию фиброза. Выявленные нами колебания уровня мРНК незначительны. Данные исследований, направленных на ингибирование белка, кодируемого геном *pos2* свидетельствуют, о его роли в качестве протектора. Выключение продукта *pos2* из активной реакции на индукцию фиброза приводило к снижению масштабов повреждения тканей печени [2, 8].

Возможно, комплексный подход к изучению мРНК, белка и соответствующих регуляторных механизмов активности гена, формирования альтернативных сплайс-форм мРНК и возможных изоформ белка позволит в будущем более подробно изучить роль *pos2* в процессах фиброгенеза.

Список литературы

1. Kielbik M., Szulc-Kielbik I., Klink M. The Potential Role of iNOS in Ovarian Cancer Progression and Chemoresistance // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. № 20(7). 1751. doi: 10.3390/ijms20071751.
2. Iwakiri Y. Nitric oxide in liver fibrosis: The role of inducible nitric oxide synthase // *Clin. Mol. Hepatol.* 2015. № 21(4): 319-325. doi:10.3350/cmh.2015.21.4.319.
3. *Nos2* deficiency enhances carbon tetrachloride-induced liver injury in aged mice / D. Li, Y. Song, Y. Wang, Y. Guo, Z. Zhang, G. Yang, G. Wang, C. Xu // *Iran J. Basic Med. Sci.* 2020. № 23(5). 600-605. doi: 10.22038/ijbms.2020.39528.9380.
4. Phenotypical and Functional Polymorphism of Liver Resident Macrophages / A. V. Elchaninov, T. Kh Fatkhudinov, P. A. Vishnyakova, A. V. Lokhonina, G. T. Sukhikh // *Cells.* 2019. № 8(9):1032. doi: 10.3390/cells8091032.
5. Bleriot C., Ginhoux F. Understanding the Heterogeneity of Resident Liver Macrophages // *Front Immunol.* 2019. № 10. 2694. doi: 10.3389/fimmu.2019.02694.
6. High-Dose Dexamethasone Manipulates the Tumor Microenvironment and Internal Metabolic Pathways in Anti-Tumor Progression / L. Xu, H. Xia, D. Ni, Y. Hu, J. Liu, Y. Qin, Q. Zhou, Q. Yi, Y. Xie // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. № 21(5). 1846. doi: 10.3390/ijms21051846.
7. LECT2 as a hepatokine links liver steatosis to inflammation via activating tissue macrophages in NASH / N. Takata, K. Ishii, H. Takayama, M. Nagahimada, K. Kamachita, T. Tanaka, A. Kikichi, Y. Takeachita, Y. Matsumoto, T. Ota, Y. Yamamoto, S. Yamagoe, A. Seki, Y. Sakai, S. Kaneko, T. Takamura // *Sci. Rep.* 2021. № 11(1). 555. doi: 10.1038/s41598-020-80689-0.
8. The role of iNOS in cholesterol-induced liver fibrosis / S. Anavi, M. Eisenberd-Bord, M. Hahn-Obercvgen, O. Genin, M. Pines, O. Tirosh // *Laboratry Investigation.* 2015. № 95. 914-925.
9. Levosimendan pretreatment improves survival of septic rats after partial hepatectomy and suppresses iNOS induction in cytokine-stimulated hepatocytes / T. Sakaguchi, Y. Hachimoto, H. Matsushima, H. Hishikawa, M. Nishizawa, T. Okumura, M. Kaibori // *Sci Rep.* 2019. № 9(1):13398. doi: 10.1038/s41598-019-48792-z.

УДК 576+612+616

Луканина С.Н., Сахаров А.В., Просенко О.И.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет»

Новосибирск

lukanina@ngs.ru, asakharov142@yandex.ru, chemistry@ngs.ru

**ИЗУЧЕНИЕ РЕДОКС-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ
ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ ГЛЮКОКОРТИКОИД-
ИНДУЦИРОВАННОМ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ**

При глюкокортикоид-индуцированном окислительном стрессе выраженные нарушения параметров редокс-гомеостаза и структурно-функциональных преобразований отмечаются в толстом кишечнике, почке и костной ткани крыс. Антиоксидант «Тиофан» наиболее эффективно оптимизирует процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов, приближая показатели редокс-гомеостаза к значениям интактных животных.

Ключевые слова: окислительный стресс, глюкокортикоиды, минеральный гомеостаз, активные метаболиты кислорода, антиоксиданты.

Lukanina S.N., Sakharov A.V., Prosenko O.I.

Novosibirsk State Pedagogical University

Novosibirsk

**STUDY OF REDOX-DEPENDENT MECHANISMS OF REGULATION IONIC
HOMEOSTASIS IN GLUCOCORTICOID-INDUCED OXIDATIVE STRESS**

Under glucocorticoid-induced oxidative stress, pronounced disturbances in the parameters of redox homeostasis and structural and functional transformations are observed in the rats large intestine, kidney and bone tissue. Antioxidant "Tiofan" most effectively optimizes the processes of free radical lipid peroxidation, bringing the indicators of redox homeostasis closer to the values of intact animals.

Key words: oxidative stress, glucocorticoids, mineral homeostasis, active oxygen metabolites, antioxidants.

Целью исследования явилось изучение редокс-зависимыми механизмов регуляции ионного гомеостаза и структурно-функциональных преобразований в костной ткани тела позвонка, кишечнике и почках крыс при моделировании окислительного стресса.

Объектом исследования явились самцы крыс линии Вистар массой 250-300 г. В каждой серии экспериментов крыс распределяли в

7 групп: интактная, контрольная и 5 групп сравнения (ГС) (n=10). Всех животных содержали в стандартных условиях вивария без ограничения доступа к воде и корму. Крысам контрольной и 4 ГС ежедневно в течение 14 суток вводили водную суспензию синтетического глюкокортикоида «Преднизолон Никомед» («Никомед Австрия ГмбХ», Линц, Австрия) в дозе 50 мг/кг с помощью внутрижелудочного зонда, инициируя у них развитие окислительного стресса (ОС). Крысам 1 ГС через три часа после преднизолона вводили 0,2 мл водопроводной воды. Животные 2 ГС по аналогичной схеме получали синтетический полифункциональный серосодержащий фенольный антиоксидант нового поколения «Тиофан» (Ассоциация «Новосибирский институт антиоксидантов», Новосибирск, Россия) (в дозе действующего вещества 100 мг/кг веса), растворенный в 0,2 мл растительного масла производства ОАО «ЭФКО» торговой марки «Altero Golden». Для сравнительной оценки эффективности различных антиоксидантных соединений были дополнительно сформированы еще две группы животных. Крысы 3 ГС аналогичным образом получали масляный раствор натурального антиоксиданта « α -токоферол» (производитель — Fluga, $\geq 98\%$), а 4 ГС — полифункциональный серосодержащий фенольный антиоксидант нового поколения «Тиофан-М» (Ассоциация «Новосибирский институт антиоксидантов», Новосибирск, Россия) в таких же объёме и дозе. У животных 5 ГС инициировали развитие эндогенного ОС для оценки вклада хэндлинг-реакции в общую картину клинических признаков. Для этого крысам данной группы по описанной выше схеме дважды вводили только водопроводную воду. В связи с тем, что «Тиофан», «Тиофан-М» и « α -токоферол» — жирорастворимые антиоксиданты, крысам контрольной группы после приема преднизолона внутрижелудочно вводили только растворитель антиоксидантов — растительное масло (0,2 мл). На 15-е сутки крыс выводили из эксперимента путем передозировки диэтилового эфира. В соответствии с задачами каждой серии экспериментов, для проведения последующего биохимического, морфогистохимического и иммуногистохимического исследования у животных всех групп забирали пробы крови из нижней поллой вены, мочи, перфузата, а также фрагменты грудного отдела позвоночного столба, сегменты тонкого кишечника, дистального отдела толстого кишечника и равные половины левой почки. В дальнейшем все биологические образцы подвергали необходимым манипуляциям пробоподготовки по стандартным методикам.

При анализе содержания в плазме крови крыс малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК) было установлено, что у животных контрольной группы и всех ГС отмечается повышение уровня липопероксидации в исследуемых образцах крови по сравнению с аналогичными показателями крыс интактной группы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное использование глюкокортикоидов, как и естественное стрессирование животных (5 ГС), приводит к усилению процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме. В контексте развития представлений о роли редокс-зависимых процессов при реализации системных реакций в организме крыс при общем адаптационном синдроме нами были проанализированы образцы плазмы крови крыс при хэндлинг-стрессировании и при моделировании глюкокортикоид-индуцированного окислительного стресса (ГКОС). Результаты исследования показали отсутствие достоверных различий у крыс этих двух групп при сравнении ключевых показателей развития ОС. Это позволяет сделать важное заключение о том, что пероральное введение преднизолона в случае моделирования ГКОС и выделение кортикостерона надпочечниками крыс при их реальном стрессировании приводит к повышению в крови уровня свободнорадикальных процессов и депрессии системы антиоксидантной защиты (АОЗ).

В работе было установлено, что влияние на показатели редокс-гомеостаза плазмы крови фармакопейного препарата « α -токоферол» и антиоксидантов «Тиофан» и «Тиофан-М» различается по уровню их специфической активности. При сравнительном анализе содержания в плазме крови крыс ДК и МДА установлено, что использование антиоксиданта «Тиофан» приводит к достоверному снижению исследуемых показателей по сравнению с образцами крыс 1 ГС. Подобный, но менее выраженный эффект наблюдается и при применении антиоксиданта «Тиофан-М». В то же время применение α -токоферола демонстрирует лишь тенденцию к снижению уровня маркеров ОС.

При исследовании содержания и активности ключевых ферментов антиоксидантной защиты было установлено, что исследуемые показатели в плазме крови крыс контрольной и всех ГС снижаются по сравнению с аналогичными значениями интактных животных. Это свидетельствует о том, что длительное применение глюкокортикоидов приводит к развитию ГКОС. При дифференциальной оценке специфической активности антиоксидантов, между ними установлены достоверные различия. Содержание и активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в плазме крови крыс 2

ГС на 14,98 и 39,32% превышают значения крыс 3 ГС и, соответственно, на 5,90 и 11,97% — животных 4 ГС. Результаты проведенного исследования показали, что на фоне длительного приема глюкокортикоидов у крыс регистрируется повышение уровня липопероксидации и снижается содержание и активность ключевых ферментов АОЗ. Сочетанное с глюкокортикоидами использование синтетического серосодержащего полифункционального антиоксиданта «Тиофан» эффективно оптимизирует процессы ПОЛ в плазме крови и приближает показатели липопероксидации у крыс к значениям интактных животных.

Поскольку в регуляции минерального гомеостаза большое значение имеют органы, участвующие в регуляции обмена элементов, входящих в состав матрикса костной ткани, было изучено состояние редокс-гомеостаза в кишечнике и почках.

При сравнительном гистологическом анализе образцов тонкого кишечника животных 1 ГС и интактной группы обнаруживаются различия в их структурной организации. В исследуемых образцах крыс, получавших глюкокортикоиды, обнаруживаются слабо выраженные ундуляции кишечных ворсин и расширение собственной пластинки слизистой оболочки за счет пролиферации фибробластов и отека компонентов межклеточного вещества. При постановке гистохимической реакции на кислые ГАГ, в исследуемых образцах тонкой кишки крыс 1 ГС отмечаются признаки снижения функциональной активности бокаловидных клеток. На гистологических препаратах заметно, что бокаловидные клетки характеризуются низким содержанием кислых ГАГ [1].

Анализ проб перфузата тонкого кишечника на содержание биогенных катионов показал, что в данном отделе ЖКТ животных всех исследуемых групп преобладает процесс абсорбции макроэлементов. В образцах перфузата крыс 1 ГС отмечалось двукратное снижение интенсивности транспорта исследуемых макроэлементов по сравнению с интактными животными (снижение интенсивности абсорбции Na, K, Ca — в два, а Mg — в 3 раза). При использовании антиоксиданта «Тиофан» абсорбция исследуемых катионов практически не изменялась, количественные показатели содержания макроэлементов в перфузате не имели отличий от аналогичных значений интактных крыс [4].

При анализе содержания микроэлементов в перфузате тонкого кишечника установлено, что в данном отделе ЖКТ у крыс всех исследуемых групп преобладает процесс их секреции. У животных 1 ГС, по сравнению со значениями интактных крыс, секреция Fe и Zn снижается практически в 2 раза, а Cu — почти в 10 раз. При приме-

нении антиоксиданта «Тиофан» секреция микроэлементов достоверно увеличивается по сравнению со значениями крыс, получавших только глюкокортикоиды, а содержание катионов в перфузате животных 2 ГС практически не отличается от значений интактных крыс. Полученные результаты позволяют заключить, что значительное снижение содержания микроэлементов в перфузате животных, получавших только глюкокортикоиды, нарушает работу пищеварительных ферментов и лимитирует возможности ферментов АОЗ. Антиоксидант «Тиофан» оказывает протекторный эффект на билипидный слой мембран эпителиоцитов тонкого кишечника и способствует оптимизации транспорта элементов через белковые каналы и альтернативные пути.

В исследуемых образцах толстого отдела кишечника животных, длительно получавших преднизолон, определяется значительное количество клеток с признаками деструкции, свидетельствующими о нарушении внутриклеточных процессов трансмембранного переноса веществ и гибели колоноцитов по механизму апоптоза. Собственная пластинка слизистой оболочки увеличена в объеме, что обусловлено пролиферацией фибробластов и отёком компонентов межклеточного вещества. В образцах толстого отдела кишечника животных, получавших на фоне введения преднизолона антиоксидант «Тиофан», структура эпителия имеет характерные для нормы признаки. Среди колоноцитов встречаются лишь единичные клетки с признаками нарушения обменных процессов. Таким образом, результаты морфо-гистохимических исследований показали, что при длительном введении преднизолона, наиболее выраженные структурно-функциональные изменения отмечались в толстом отделе кишечника, по сравнению с тонким.

Анализ содержания биогенных катионов в перфузате дистального отдела толстого кишечника (ДОТК) животных всех групп позволяет выявить закономерность, связанную с преимущественной абсорбцией макро-, и преобладанием секреции микроэлементов. В каждой из исследуемых групп интенсивность этих процессов имеет ряд отличий. У животных 1 ГС уровень абсорбции всех макроэлементов достоверно повышается по сравнению с соответствующими значениями крыс интактной группы. Наиболее ярко эта закономерность проявляется в отношении Na и K. Их количественное содержание в перфузате снижается в 3 и 10 раз соответственно. При использовании антиоксиданта «Тиофан» отмечается снижение уровня ОС в гомогенатах кишечника, а интенсивность абсорбции макроэлементов не отличается от показателей животных интактной группы.

При анализе содержания в перфузате микроэлементов характерным признаком для животных всех групп является преобладание процесса секреции катионов над абсорбцией. В образцах перфузата животных 1 ГС содержание Fe, Cu и Zn превышает в 2,7, 14 и 3,5 раза соответствующие значения интактных крыс. Применение антиоксиданта «Тиофан» снижает уровень секреции данных катионов и приближает их содержание в перфузате к значениям животных интактной группы.

Масштабы свободнорадикального повреждения почек крыс, равно как и возможность регуляции деструктивных процессов с использованием антиоксидантных соединений, потребовали исследования структурно-функциональной организации паренхимы данного органа.

На препаратах почки крыс 1 ГС морфологически определяются активные нефроны и нефроны с признаками повреждения. Признаки активных нефронов в препаратах крыс 1 ГС не имеют выраженных различий от соответствующих образцов интактных животных. При этом количество активных нефронов в препаратах почки крыс 1 ГС достоверно (на 44,41%) снижено по сравнению с соответствующими образцами почки интактных животных. Результаты морфологического анализа образцов почки крыс 2 ГС показали, что количество клубочков с признаками деструкции имеет статистически достоверно более низкий показатель по сравнению с животными 1 ГС. Деструктивные изменения в нефронах имели признаки слабо выраженной мембранозной нефропатии. Выявленные морфологические признаки указывают на изменения матрикса базальной гломерулярной мембраны и структуры фильтрационного барьера почечного клубочка.

В результате анализа проб плазмы крови животных, длительно получавших глюкокортикоиды, установлено, что в их крови происходит повышение концентрации креатинина и мочевины, выраженная тенденция к гиперкалиемии и гипонатриемии. Обнаруженные гомеостатические сдвиги указывают на развитие у крыс 1 ГС почечной недостаточности. Подобные изменения зарегистрированы в крови животных контрольной группы. У крыс 2 ГС происходило статистически значимое снижение концентрации креатинина, мочевины и ионов калия относительно аналогичных показателей животных 1 ГС [3].

На следующем этапе работы оценивали функциональное состояние почек крыс при ГКОС. Обнаруженные нарушения гидро- и ионоуретической функций почек, а также и изменение ионно-осмотических показателей плазмы крови у животных, длительно

получавших глюкокортикоиды, могут объясняться повреждением клеток и межклеточного вещества паренхимы почек преимущественно активными формами кислорода при ОС. Значительная роль свободнорадикальных процессов в развитии нефропатии подтверждается коррекцией гомеостатических показателей плазмы крови и функционального состояния почек при использовании антиоксидантного соединения.

При проведении морфогистохимического анализа образцов костной ткани тел позвонков крыс 1 ГС установлено, что введение преднизолонa приводит к уменьшению площади компактного и губчатого слоев костной ткани на 58,77 и 53,31% соответственно, по сравнению с животными интактной группы. Обнаруживается неравномерное снижение толщины кортикальных пластинок со стороны дорсальной и вентральной поверхностей тела позвонка. Изменения губчатого слоя пластинчатой костной ткани проявляются истончением костных перекладин, снижением занимаемой ими площади по сравнению с аналогичными образцами позвонков животных интактной группы. Подобные изменения характерны также для образцов тел позвонков животных контрольной группы. Изучение образцов костной ткани животных 2 ГС показало, что использование антиоксиданта «Тиофан» при моделировании ОС ограничивает развитие структурных нарушений костной ткани тела позвонка. Результаты исследования препаратов животных данной группы в проходящем свете позволяют отметить статистически значимое увеличение площади компактного и губчатого слоев пластинчатой костной ткани на 34,53 и 46,97% соответственно, по сравнению с животными, получавшими только глюкокортикоиды [2].

Таким образом, длительное использование глюкокортикоидов приводит к нарушению гистоархитектоники костной ткани тел позвонков. На тканевом уровне это проявляется в лизисе вертикальных трабекул тел позвонков, резорбции костного матрикса в дорсальном компартменте и усилению процессов моделирования костной ткани в его вентральном отделе. Пероральное применение антиоксиданта «Тиофан» наиболее эффективно препятствует развитию резорбции костной ткани тел позвонков, что демонстрирует высокую роль АФК в механизмах моделирования и ремоделирования костной ткани тела позвонка при ГКОС.

Список литературы

1. Луканина С.Н. Влияние антиоксиданта Тиофана на структурно-функциональную организацию кишечника крыс в условиях глюкокортикоидной нагрузки // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2010. № 2 (206). С. 61–68.
2. Луканина С.Н., Сахаров, А.В., Просенко, А.Е., Ефремов, А.В., Романова, К.А. Влияние окислительного стресса на гистоархитектонику и элементный состав костной ткани тела позвонка крыс // Бюллетень сибирской медицины. 2015. Т. 14. № 4. С. 33–40.
3. Луканина С.Н., Сахаров, А.В., Просенко, А.Е., Жучаев, К.В. Особенности гидро- и ионоуретической функций почек крыс при окислительном стрессе // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2017. № 1. С. 18–27.
4. Луканина С.Н., Сахаров, А.В., Просенко, О.И. Влияние окислительного стресса на транспорт биоэлементов в тонком кишечнике крыс // Генетика и разведение животных. 2020. № 1. С. 66–72.

УДК 542.943-92:547.85

Максютова А.А.

Башкирский государственный университет

Уфа

ajm-ajms@mail.ru

ОКИСЛЕНИЕ УРАЦИЛОВ ОЗОНОМ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ: КИНЕТИКА И АКТИВАЦИОННЫЕ ПАРАМЕТРЫ

Методом УФ-спектрометрии изучена кинетика окисления урацилов озонем в водных растворах. Установлено, что исследуемые реакции протекают по кинетическим уравнениям второго порядка. В интервале 285-309 К изучены температурные зависимости констант скоростей окислительных реакций, на основании которых были вычислены параметры уравнений Аррениуса.

Ключевые слова: урацилы, озон, кинетика, активационные параметры.

OXIDATION OF URACILS BY OZONE IN AQUEOUS SOLUTIONS: KINETICS AND ACTIVATION PARAMETERS

Oxidation kinetics of uracils by ozone in aqueous solutions is studied by UV-spectrometry method. It was found that the investigated reactions proceed according to kinetic equations of the second order. In the range 285-309 K, the temperature dependences of the rate constants of oxidative reactions were studied, on the basis of which the parameters of the Arrhenius equations were calculated.

Key words: uracils, ozone, kinetics, activation parameters.

Известно, что среди молекул живого организма одними из самых важных являются нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК). Нуклеиновые основания — главные строительные блоки этих кислот. Различные виды нарушений целостности структур мономерных звеньев (в первую очередь, нуклеиновых оснований) РНК и ДНК окислителями способны приводить к тяжелым формам наследственных заболеваний. В настоящее время ведутся работы по изучению механизмов окисления нуклеиновых оснований и поиску путей их предотвращения (см., например, [1-4]). В то же время в научной литературе достаточно слабо представлен такой окислитель как озон, который в настоящее время приобрел огромную популярность в медицинской практике. Интерес представляют количественные данные по окислению озоном нуклеиновых оснований, имеются лишь отдельные работы по производным урацила (см., например, [5]). В этой связи изучение кинетики окисления нуклеиновых оснований (урацила, тимина) и ряда производных урацила, как модельных соединений, озоном в водных растворах является актуальной задачей.

В качестве объектов исследований были выбраны урацил (I), тимин (II), 5-фторурацил (III), 6-метилурацил (IV), 5-бром-6-метилурацил (V), 5-гидрокси-6-метилурацил (VI), 5-нитро-6-метилурацил (VII), 1,3-диметилтимин (VIII) и 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацил (IX). Исследования проводились на спектрофотометре UV-2600 фирмы «Shimadzu». Растворителем служила бидистиллированная вода.

На первом этапе построены калибровочные графики водных растворов урацила и его производных (ПУ), которые в дальнейшем были использованы для расчетов их остаточных концентраций. На

основе этих графиков, согласно по закону Бугера-Ламбера-Бера, были рассчитаны значения коэффициентов экстинкции $\epsilon_{\text{ПУ}}$ (табл. 1).

На следующем этапе изучена кинетика реакций озона с производными урацила спектрофотометрическим методом при равных начальных концентрациях реагентов ($[\text{ПУ}] = [\text{O}_3] = C$).

Таблица 1. Коэффициенты экстинкции водных растворов урацилов

Урацилы	$\epsilon_{\text{ПУ}} \times 10^{-3}, \text{ л моль}^{-1} \text{ см}^{-1}$	$\lambda_{\text{max}}, \text{ нм}$
I	8,4±0,2	257
II	6,8±0,1	264
III	7,0±0,2	265
IV	9,0±0,1	260
V	7,8±0,1	275
VI	8,1±0,1	275
VII	9,4±0,1	260
VIII	10,0±0,1	267
IX	7,9±0,1	283

Было установлено, что в указанных условиях кинетические кривые изменения концентрации C достаточно хорошо линейризуются в координатах уравнения реакции второго порядка:

$$1/C = 1/C_0 + k t \quad (r \geq 0,998) \quad (\text{I})$$

В качестве примера на рис. 1 приведена линейризация кинетических кривых изменения C в координатах уравнения (I) для реакций озона с тремя азотистыми основаниями.

На следующем этапе с помощью барботажной установки [6] изучена кинетика поглощения озона водными растворами урацилов при комнатной температуре. Данные исследования позволили определить стехиометрические соотношения реагентов на начальных стадиях окисления. Установлено, что на 1 моль израсходованного урацила приходится 1 моль поглощенного озона.

Таким образом, реакция ПУ с O_3 подчиняется следующему кинетическому уравнению:

$$V = -dC/dt = k [\text{ПУ}] [\text{O}_3], \quad (\text{II})$$

где k — константа скорости реакции озона с рядом изученных урацилов.

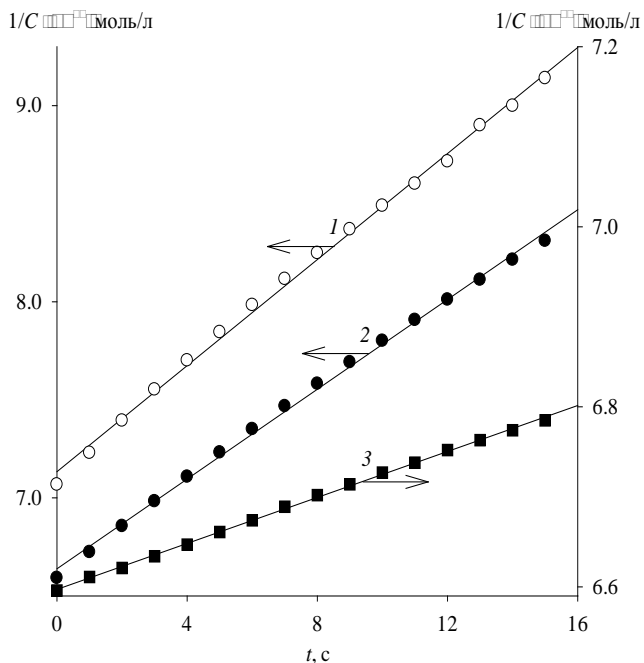


Рис. 1. Линеаризация кинетических кривых изменения концентрации C для реакций озона с урацилами в координатах уравнения (I); 305 К, 1 — 6-метилурацил, 2 — 5-нитро-6-метилурацил и 3 — тимин

В настоящей работе в интервале 285-309 К изучены температурные зависимости констант скоростей второго порядка для реакций озона со всеми изученными урацилами. Полученные данные приведены в табл. 2.

Таблица 2. Температурные зависимости констант скоростей второго порядка реакций окисления озоном урацила и его производных

Урацилы	T, K						
	285	289	293	297	301	305	309
	$k \times 10^{-1}$, л моль ⁻¹ с ⁻¹						
I	4,5*	5,7	6,6	7,8	8,5	11,4	12,1
II	0,7	0,8	0,9	1,1	1,2	1,3	1,5
III	0,3	0,5	0,6	0,8	1,1	1,6	1,9
IV	4,5	5,3	7,0	8,6	11,5	13,9	17,2
V	6,2	7,4	8,1	10,2	11,2	12,4	15,3
VI	3,0	4,4	5,5	5,8	7,4	8,8	11,2
VII	3,1	4,4	6,1	7,6	9,7	11,9	15,0
VIII	6,6	8,7	9,3	13,5	16,9	18,3	24,8
IX	0,7	0,9	1,2	1,7	2,4	3,0	4,7

* Погрешность определения k не превышала 10%.

Анализ этой таблицы позволил установить следующий порядок реакционной способности урацилов по отношению к озону (285 K): 5-фторурацил < тимин \approx 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацил < 5-гидрокси-6-метилурацил < 5-нитро-6-метилурацил < урацил \approx 6-метилурацил < 5-бром-6-метилурацил < 1,3-диметилтимин. Из приведенных данных следует, что тимин и его синтетический аналог (5-фторурацил) обладают наиболее выраженной антиокислительной активностью. Данное утверждение подтверждается результатами работы [7].

Оказалось, что температурные зависимости констант скоростей удовлетворительно линеаризуются в логарифмических координатах уравнения Аррениуса. Значения активационных параметров, полученных для исследуемых нами реакций, суммированы в табл. 3.

Установлено, что между энергиями активации и логарифмами предэкспоненциальных множителей наблюдается линейная корреляция (рис. 2), что, скорее всего, свидетельствует о единой лимитирующей стадии исследуемых реакций.

Таблица 3. Активационные параметры реакций окисления урацилов озоном

Исследуемые урацилы	$\lg A$, л моль ⁻¹ с ⁻¹	E , кДж/моль
Урацил	7,2±0,7	30,3±4,2
Тимин	5,1±0,5	23,2±2,8
5-Фторурацил	10,5±1,0	54,4±5,7
6-Метилурацил	9,4±0,5	42,4±2,9
5-Бром-6-метилурацил	6,6±0,6	26,3±3,2
5-Гидрокси-6-метилурацил	8,3±0,8	37,1±4,8
5-Нитро-6-метилурацил	10,2±0,8	47,4±4,4
1,3-Диметилтимин	9,0±1,1	39,5±3,7
5-Гидрокси-1,3,6-триметилурацил	12,9±1,3	66,4±7,1

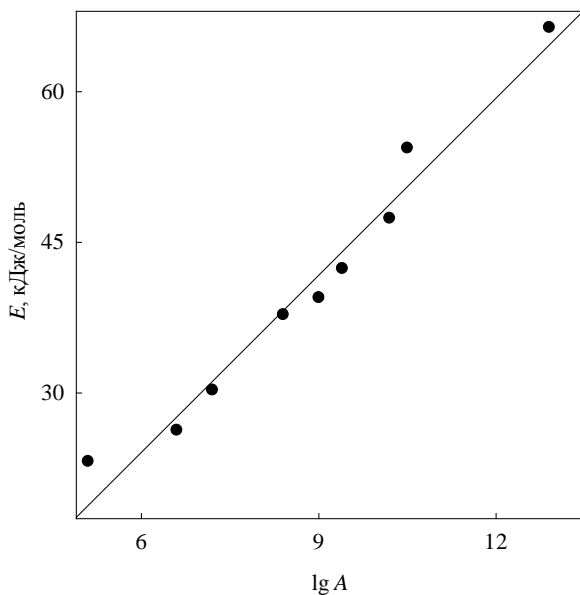


Рис. 2. Зависимость энергии активации от логарифма предэкспоненциального множителя для реакций озона с урацилами в водных растворах

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-73-20073).

Список литературы

1. Simandan T., Sun J., Dix T.A. Oxidation of DNA bases, deoxyribonucleosides and homopolymers by peroxy radicals // *Biochem. J.* 1998. Т. 335. № 2. С. 233-240.
2. ¹H atom and ¹OH radical reactions with 5-methylcytosine. *J. Phys. Chem. A.* 2007. V. 111. N 37. P. 8968-8972.
3. Кузнецова А.А., Кнорре Д.Г., Федорова О.С. Окисление ДНК и ее компонентов активными формами кислорода // *Усп. химии.* 2009. Т. 78. № 7. С. 714-734.
4. Wagner J.R., Cadet. J. Oxidation reactions of cytosine DNA components by hydroxyl radical and one-electron oxidants in aerated aqueous solutions // *Acc. Chem. Res.* 2010. V. 43. N 4. P. 564-571.
5. Зимин Ю.С., Хайруллина Л.Р., Кутлугильдина Г.Г., Муштафин А.Г. Хемиллюминесценция в реакции озона с 6-метилурацилом в водных растворах // *Журн. физ. химии.* 2015. Т. 89. № 12. С. 1864-1866.
6. Зимин Ю.С. Кинетика и механизм озонированного окисления спиртов, эфиров, кетонов и олефинов в водной среде: дисс. ... докт. хим. наук. Уфа, 2006. 302 с.
7. McFarland B.K. et al. Ultrafast X-ray Auger probing of photo-excited molecular dynamics // *Nat. Commun.* 2014. Vol. 5, N 4235. P. 1-7.

УДК 616.24-006.66-07:612.11:547.995.22

Мурашко Д.И.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Минск, Беларусь

sherstyanouymurovei@mail.ru

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМБИНАЦИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ РЕЦЕПТОРОВ CXCR2, CXCR1 И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ В ДИАГНОСТИКЕ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ) — одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований в мире. Поздняя его диагностика существенно сказывается на выживаемости пациентов. При этом, в настоящее время не существует доступных и информативных показателей, позволяющих выявить НМКРЛ, в особенности, на ранних его стадиях.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома, плоскоклеточный рак, рецептор, CXCR1, CXCR2, гиалуроновая кислота.

Murashko D.I.

Belarusian State Medical University
Minsk, Belarus

PROSPECTS OF THE USE OF RELATIVE NUMBER OF LYMPHOCYTES CONTAINING CXCR2, FLUORESCENCE INTENSIVITY OF CXCR1 IN GRANULOCYTES AND HIALURONIC ACID SERUM LEVEL IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER DIAGNOSIS

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is one of the most widespread malignant neoplasms all over the world. Late diagnosis of this disease significantly worsens its prognosis. Nevertheless, currently there are no available and informative biomarkers which would allow to identify NSCLC, especially, in its early stages.

Key words: Non-small cell lung cancer, adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, receptor, CXCR1, CXCR2, hyaluronic acid.

В 2018 году зарегистрировано 2.1 млн новых случаев рака легкого (12% от всех диагностируемых случаев рака) [1]. В структуре заболеваемости раком легкого 85% принадлежит немелкоклеточному раку (НМКРЛ), который, в свою очередь, включает в себя два основных гистологических подтипа: аденокарциному (АК) и плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ) [2].

В сравнении с ПКРЛ, для АК характерно менее агрессивное течение и значительно лучший прогноз. Так, пятилетняя выживаемость пациентов с установленной I стадией АК и ПКРЛ соответственно составляет 79% и 47% соответственно и снижается более, чем на треть, уже на II стадии НМКРЛ обоих гистологических подтипов. У пациентов с IV стадией АК и ПКРЛ выживаемость составляет лишь 6% и 2% соответственно [3].

В настоящее время не существует информативных и специфичных биомаркеров, позволяющих выявить ранние стадии как АК и ПКРЛ. С целью уточнения диагноза определяют уровень CYFRA 21-1 (фрагмента цитокератина 19) и SCC (антигена плоскоклеточной карциномы) в сыворотке крови пациентов. Однако диагностическая чувствительность определения их невысока.

Рост любой злокачественной опухоли сопровождается развитием воспаления в окружающей ее ткани. Клетки воспалительного микроокружения и стромы опухоли продуцируют большое количество цитокинов, хемокинов и транскрипционных факторов, ответственных за

жизнеобеспечение опухоли в условиях интенсивной пролиферации опухолевых клеток и связанной с этим гипоксии [4, 5].

CXCL5 и CXCL8 — провоспалительные хемокины, обладающие ангиогенной активностью. Связывание их с рецепторами CXCR1 и CXCR2 способствует привлечению иммунных клеток в зону воспаления, запускают ангиогенез и метастазирование опухоли [4].

HIF-1 α — индуцируемый гипоксией транскрипционный фактор, ответственный за экспрессию адгезионного рецептора CD44v6. Его основным лигандом является гиалуроновая кислота (ГК). Взаимодействие ГК с CD44v6 приводит к активации фермента матриксной металлопротеиназы 9, играющей существенную роль в опухолевой инвазии [6].

Целью настоящего исследования явилось установление возможности использования компонентов осей CXCL8/CXCR1, CXCL5/CXCR2, HIF-1 α /CD44v6/ГК в диагностике ПКРЛ и АК, в особенности, на его ранних стадиях.

Материалы и методы. Обследовано 107 пациентов с ПКРЛ и 90 пациентов с АК (стадия I по классификации TNM — 21 и 24 пациента соответственно; стадия II — 41 и 27, соответственно; стадия III — 41 и 29, соответственно; IV — 4 и 10, соответственно) при первом поступлении их в стационар РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова в период 2019-2021 гг. В качестве группы контроля обследовано 40 человек без проявлений заболевания в возрасте 43–67 лет.

Определение концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови проводили методом иммунохемилюминесцентного анализа, измерение уровня ГК -методом иммуноферментного анализа. Относительное количество клеток крови, снабженных рецептором CXCR2, и плотность расположения рецептора CXCR1 в них (MFI) в клетках крови определялись методом проточной цитометрии.

Статистическую обработку данных проводили методами непараметрической статистики с использованием программного пакета MedCalc (США). Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25–75%). Для оценки различий между двумя независимыми группами применяли U-критерий Манна–Уитни. О взаимосвязи между определяемыми показателями и стадиями заболевания судили на основании расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R).

Оценку диагностической информативности биохимических тестов проводили с помощью построения характеристических ROC-кривых, вычисления площади под ней (AUC), а также расчета диа-

гностической чувствительности (ДЧ), специфичности (ДС) и эффективности теста (ДЭ). Пороговое значение диагностического теста определяли как величину оптимального сочетания чувствительности и специфичности теста при построении ROC-кривых.

Построение диагностической модели осуществляли с помощью метода бинарной логистической регрессии. Качество приближения регрессионной модели оценивали при помощи функции правдоподобия, мерой которой служит отрицательное удвоенное значение логарифма этой функции (-2LL). Согласованность полученной модели (регрессионного уравнения) проверяли, используя тест Хосмера–Лемешева.

При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали равным 5%.

Результаты. Полученные нами ранее результаты определения компонентов осей CXCL8/CXCR1, CXCL5/CXCR2, HIF-1 α /CD44v6/ГК свидетельствуют о значительном повышении уровня некоторых из них в крови пациентов с АК и ПКРЛ (табл. 1). Проведенный корреляционный анализ подтвердил наличие связи средней силы упомянутых показателей со стадиями заболевания ($R > 0,3$). Пациентов с III-IV стадией НМКРЛ и I его стадией.

Несмотря на сходные закономерности изменения показателей в крови пациентов с различными гистологическими типами НМКРЛ, результаты проведенного ROC-анализа свидетельствуют о различной диагностической ценности их определения при АК и ПКРЛ. Диагностические параметры их определения в крови пациентов с АК и ПКРЛ указаны в табл. 2.

С целью повышения диагностической ценности показателей для выявления ранних стадий АК и ПКРЛ, дифференцирования их от поздних стадий, а также различия I и II стадий были созданы математические модели, разработанные на основе информативных лабораторных показателей в виде регрессионных уравнений.

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, уровень ГК в сыворотке крови, а также плотность расположения CXCR1 в гранулоцитах оказались наиболее значимыми факторами, указывающими на наличие у пациента какой-либо из ранних (I–II) стадий ПКРЛ.

Таблица 1. Уровень CYFRA 21-1, ГК, CXCR1 и CXCR2 в крови пациентов с НМКРЛ и здоровых людей

Показатель	Контроль	ПКРЛ (стадии)			
		I	II	III-IV	R
MFI CXCR1	25,5 [20,1;49,0]	32,7 * [18,3;47,2]	47,2 *# [28,9;47,4]	53,9*##† [41,8;87,7]	0,524
CXCR2, лимфоциты, %	9,5 [6,3;14,5]	19,2* [16,0;21,2]	24,9*# [15,1;25,9]	31,2*##† [24,0;34,4]	0,689
ГК, нг/мл	8,4 [7,1;18,0]	15,1* [10,7;31,1]	22,4 *# [20,7;40,5]	31,7 *##† [29,7;43,3]	0,518
CYFRA-21-1, нг/мл	1,5 [1,2;1,9]	3,1 * [2,2;4,6]	3,6 * [2,1;5,9]	5,6 *##† [4,2;12,3]	0,469
Показатель	Контроль	АК (стадии)			
		I	II	III-IV	R
MFI CXCR1 гранулоциты	25,5 [20,1;49,0]	32,1 * [22,9;50,6]	47,1 *# [41,2;65,7]	56,9 *##† [49,9;66,9]	0,526
CXCR2, лимфоциты %	9,5 [6,3;14,5]	16,6* [10,7;21,5]	20,9*# [14,1;34,4]	32,5*##† [24,3;34,3]	0,683
ГК, нг/мл	8,4 [7,1;18,0]	22,4 * [15,0;24,6]	28,7 *# [23,8;32,2]	30,2 *##† [27,0;33,6]	0,567
CYFRA-21-1, нг/мл	1,5 [1,2;1,9]	1,9 * [1,5;4,3]	2,6 * [2,1;3,8]	4,3 *##† [2,8;7,2]	0,329

Примечание: * достоверность различий у пациентов с НМКРЛ и здоровых людей; # достоверность различий у пациентов со II стадией НМКРЛ и другими его стадиями; † достоверность различий у пациентов с III-IV стадией НМКРЛ и I его стадией.

$$Y1 = \frac{\exp(-31,4+0,29*ГК)+1,45*[CXCR2, \text{лимфоциты}, \%]+0,09*[MFI, CXCR1, \text{гранулоциты}]}{1+\exp(-31,4+0,29*ГК)+1,45*[CXCR2, \text{лимфоциты}, \%]+0,09*[MFI, CXCR1, \text{гранулоциты}]}$$

Здесь и далее: Y — вероятность прогнозирования у испытуемого искомого признака, exp — показательная функция, равная e^x, где e — основание натурального логарифма (≈2,718).

Диагностическая эффективность регрессионной модели, включающей вышеупомянутые показатели, возрастает на 11,1–18,5% в сравнении с таковой определения каждого из них в отдельности. Пороговое значение Y_1 составила 0,59. Это значит, что у испытуемых со значением результирующей переменной более 0,59, с соответствующей чувствительностью прогнозируется ПКРЛ, а при Y_1 менее 0,59 можно исключить ПКРЛ с вероятностью, равной диагностической специфичности модели.

Те же самые показатели также вошли в регрессионную модель, позволяющую со сравнительно высокой эффективностью дифференцировать III–IV стадии ПКРЛ от I–II его стадии (уравнение Y_2).

$$Y_2 = \frac{\exp(-41,9+0,14*[ГК]+1,35*[СХСR2,лимфоциты, \%]+0,06*[MFI,СХСR1,гранулоциты])}{1+\exp(-41,9+0,14*[ГК]+1,35*[СХСR2,лимфоциты, \%]+0,06*[MFI,СХСR1,гранулоциты])}$$

Совместное определение в крови пациентов уровня ГК и доли лимфоцитов, снабженных СХСR2, позволяет отличить II стадию ПКРЛ от I с чувствительностью 91,3% и специфичностью 95,8% при Y_3 , равном 0,34.

$$Y_3 = \frac{\exp(-23,2+0,21*[ГК]+0,87*[СХСR2,лимфоциты, \%])}{1+\exp(-23,2+0,21*[ГК]+0,87*[СХСR2,лимфоциты, \%])}$$

В связи со значительными расхождениями в чувствительности и специфичности определяемых показателей при диагностике разных гистологических типов НМКРЛ, были разработаны отдельные диагностические модели для установления у пациентов АК. В регрессионное уравнение Y_4 , позволяющее определить наличие у испытуемых I–II стадий АК, так же, как и в случае ПКРЛ, были включена доля лимфоцитов, снабженных СХСR2, плотность расположения СХСR1 в гранулоцитах, и концентрация в сыворотке крови СYFRA 21-1.

$$Y_4 = \frac{\exp(-22,2+4,9*[СYFRA 21-1]+0,66*[СХСR2,лимфоциты, \%]+0,15*[MFI,СХСR1,гранулоциты])}{1+\exp(-22,2+4,9*[СYFRA 21-1]+0,66*[СХСR2,лимфоциты, \%]+0,15*[MFI,СХСR1,гранулоциты])}$$

Комбинация уровня СYFRA 21-1 в сыворотке крови испытуемых и доли лимфоцитов, снабженных СХСR2, также продемонстрировала высокую диагностическую эффективность при дифференцировании ранних и поздних стадий АК (уравнение Y_5).

$$Y_5 = \frac{\exp(-12,3+0,37*[СYFRA 21-1]+0,39*[СХСR2,лимфоциты, \%])}{1+\exp(-12,3+0,37*[СYFRA 21-1]+0,39*[СХСR2,лимфоциты, \%])}$$

В то же время доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, в сочетании с уровнем ГК в сыворотке крови, как и при ПКРЛ, оказались наиболее информативны при отличии I и II стадий АК (табл. 2).

$$Y_6 = \frac{\exp(-27,3+2,41*[ГК]+1,35*[CXCR2, \text{лимфоциты}, \%])}{1+\exp(-27,3+2,41*[ГК]+1,35*[CXCR2, \text{лимфоциты}, \%])}$$

Таблица 2. Диагностическая значимость индивидуального и комбинированного определения уровня ГК, MFI CXCR1 в гранулоцитах, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и CYFRA 21-1 в крови здоровых людей и пациентов с НМКРЛ

2.1 I-II стадии ПКРЛ/здоровые					
Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	ДЭ, %
CXCR2 лимфоциты, %	9,4	77,8	98,4	0,837	83,9
MFI CXCR1, гранулоциты	10,9	98,3	61,1	0,799	76,6
ГК, нг/мл	19,1	76,0	94,7	0,883	84,0
Комбинация (Y1)	0,59	95,7	93,7	0,954	95,1
2.2 I-II стадии ПКРЛ/III-IV стадии ПКРЛ					
Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	ДЭ, %
CXCR2 лимфоциты, %	22,5	68,9	98,4	0,800	81,1
MFI CXCR1, гранулоциты	44,2	87,5	90,3	0,876	87,0
ГК, нг/мл	23,2	97,6	66,7	0,764	76,2
Комбинация (Y2)	0,64	93,1	93,3	0,956	93,5
2.3 I стадия ПКРЛ/II стадия ПКРЛ					
Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	ДЭ, %
CXCR2 лимфоциты, %	15,2	80,0	98,7	0,817	82,9
ГК, нг/мл	26,4	90,8	66,7	0,764	81,4
Комбинация (Y3)	0,34	94,4	87,5	0,924	90,3
2.4 I-II стадии АК/здоровые					
Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	ДЭ, %
CXCR2 лимфоциты, %	9,5	93,2	52,4	0,815	76,8
MFI CXCR1, гранулоциты	10,9	98,3	61,1	0,799	76,6
CYFRA 21-1, нг/мл	2,8	72,2	89,7	0,808	82,3
Комбинация (Y4)	0,61	91,2	94,7	0,978	93,4
2.5 I-II стадии АК/ III-IV стадии АК					
Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	ДЭ, %
CXCR2 лимфоциты, %	22,1	78,9	79,6	0,780	79,1
CYFRA 21-1, нг/мл	4,1	79,6	63,0	0,737	78,6
Комбинация (Y5)	0,15	94,7	91,2	0,923	90,1

2.6 I стадия АК/II стадия АК					
Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	ДЭ, %
СХСR2 лимфоциты, %	11,8	98,2	41,7	0,667	66,8
ГК, нг/мл	25,1	61,5	94,6	0,785	76,2
Комбинация (У6)	0,46	88,2	91,3	0,941	90,2

Полученные результаты свидетельствуют о различной прогностической ценности определяемых показателей при разных гистологических типах НМКРЛ. Так, СУFRA 21-1 в комплексном использовании с другими показателями демонстрирует большую информативность в диагностике ранних стадий АК, в то время как MFI СХСR1 в гранулоцитах — при ПКРЛ.

Уровень ГК в сыворотке крови и MFI СХСR1 в гранулоцитах существенно повышают эффективность определения доли лимфоцитов, снабженных СХСR2, у пациентов с поздними стадиями ПКРЛ, в то время как при III-IV стадиях АК для достижения сопоставимой диагностической ценности достаточно комбинации этого показателя с уровнем в крови СУFRA 21-1.

Комбинация уровня в крови ГК и доли лимфоцитов, снабженных СХСR2, может использоваться в дополнительной оценке распространенности опухолевого процесса на ранних стадиях заболевания при обоих гистологических типах НМКРЛ.

Список литературы

1. Brett C. Bade. Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology and Prevention // Clin Chest Med. 2020. Vol. 41, № 1. P. 1–24.
2. Zappa C., Mousa S.A. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances // Transl Lung Cancer Res. 2016. Vol. 5, № 3. P. 288-300.
3. Wang B. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer patients // J Cancer Res Clin Oncol. 2020. Vol 146, №1. P. 43–52.
4. Lui Q. The СХСR1/СХСR2 pathways in cancer // Cytokine Growth Factor Rev. 2016. Vol. 31. P. 61–71.
5. Sean Blandin Knight. Progress and prospects of early detection of lung cancer // Open Biol. 2017. Vol. 7, №9. P. 170070.
6. Pirinen R. Prognostic value of hyaluronan expression in non-small cell lung cancer: increased stromal expression indicates unfavorable outcome in patients with adenocarcinoma // Int J of Cancer, 2001. Vol. 95, №1. P. 2–17.

УДК 577.21:613.62

*Мухаммадиева Г.Ф., Валова Я.В., Зиятдинова М.М.,
Каримов Д.О., Кудояров Р.Э., Борисова А.И.*

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»

Уфа

ufniimt@mail.ru

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ГЛУТАТИОН-S-
ТРАНСФЕРАЗЫ P1 С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ
К ХРОНИЧЕСКОМУ ПЫЛЕВОМУ БРОНХИТУ**

В данной работе исследована ассоциация полиморфизма Ile105Val гена GSTP1 с хроническим пылевым бронхитом (ХПБ). Нами не выявлены статистически значимые различия в распределении генотипов этого полиморфизма между группой больных и контролем. Установлено, что у пациентов с ХПБ преобладал аллель А полиморфизма Ile105Val гена GSTP1.

Ключевые слова: хронический пылевой бронхит, генетический полиморфизм, аллели, генотипы.

*Mukhammadiyeva G.F., Valova Ya.V., Ziatdinova M.M.,
Karimov D.O., Kudoyarov E.R., Borisova A.I.*

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology

Ufa

**ASSOCIATION OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE P1 GENE
POLYMORPHISM WITH A PREDISPOSITION TO CHRONIC DUST
BRONCHITIS**

In this work, we investigated the association of the Ile105Val polymorphism of the GSTP1 gene with chronic dust bronchitis (CDB). We did not find statistically significant differences in the distribution of the genotypes of this polymorphism between the group of patients and control. It was found that in patients with CDB, allele A of the Ile105Val polymorphism of the GSTP1 gene prevailed.

Key words: chronic dust bronchitis, genetic polymorphism, alleles, genotypes.

Хронический пылевой бронхит (ХПБ) является одной из форм хронического бронхита. В основном ХПБ возникает при продолжительном и интенсивном воздействии различных промышленных аэрозолей. Несмотря на улучшение условий труда, риск развития ХПБ на многих предприятиях остается достаточно высоким [2].

Наряду с производственными факторами в развитии ХПБ важное значение имеет наследственная предрасположенность. Известно, что полиморфизм генов определяет индивидуальную восприимчивость организма к воздействию вредных факторов. В патогенезе бронхолегочных заболеваний особую роль играют гены, кодирующие ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков, в частности, гены семейства глутатион-S-трансфераз. К ним относится ген *GSTP1*, кодирующий фермент глутатион-S-трансферазу P1. Для гена *GSTP1* описан полиморфизм в экзоне 5 (A313G, rs1695), проявляющийся заменой основания аденина (A) на гуанин (G) в позиции 313, что приводит к замене изолейцина (Ile) на валин (Val) в 105 положении (Ile105Val). Данная замена может изменить активность фермента, увеличивая ее для одних субстратов и снижая для других [3]. С полиморфизмом Ile105Val гена *GSTP1* связаны различия в активности фермента и восприимчивости к заболеваниям, вызванным воздействием факторов окружающей среды, включая профессиональный хронический бронхит [1]. При этом в разных исследованиях были получены противоречивые результаты и сделаны неоднозначные заключения.

Цель исследования: оценить вклад полиморфизма Ile105Val гена *GSTP1* в развитие ХПБ.

Материалы и методы. В исследование включены 43 больных с ХПБ в возрасте от 40 до 59 лет. Все пациенты находились на обследовании и стационарном лечении в отделении профессиональной аллергологии и иммунореабилитации клиники ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека». В контрольную группу вошли 70 человек без признаков бронхолегочной патологии из общей популяции города Уфы. Группы были сопоставимы по полу и возрасту. ДНК выделяли из периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Изучение полиморфизма Ile105Val гена *GSTP1* проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДФ). Детекцию продуктов амплификации осуществляли электрофоретическим способом в 3% агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета программ Statistica v. 7.0. Оценку значимости межгрупповых различий проводили при помощи критерия χ^2 . Различия при $p < 0,05$ считали статистически значимыми. Силу ассоциаций генотипических характеристик с риском развития ХПБ оценивали по значению показателя отношения шансов (ОШ) с расчетом его 95% доверительного интервала (95% ДИ).

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ распределения частот генотипов полиморфизма Ile105Val гена *GSTP1* не обнаружил статистически значимых различий между больными ХПБ и контрольной группой ($p > 0,05$). При этом выявлена тенденция к увеличению частоты встречаемости гомозиготного генотипа А/А у больных по сравнению с контролем. В выборке больных частота данного генотипа составила 60,5%, в контрольной группе — 40,0% ($\chi^2=3,69$, $p=0,055$).

При сравнении частот аллелей полиморфизма Ile105Val гена *GSTP1* в исследуемых группах установлено статистически значимое преобладание числа носителей аллеля А среди пациентов с ХПБ (76,7%) по сравнению с контролем (62,9%; $\chi^2=4,11$, $p=0,043$), что, вероятно, свидетельствует о рискованных эффектах этого аллеля. Согласно критерию отношения шансов наличие аллеля А почти в 2 раза увеличивает риск возникновения ХПБ (ОШ=1,95, 95% ДИ: 1,06-3,58). Полученные нами результаты согласуются с результатами анализа ассоциации полиморфизма Ile105Val гена *GSTP1* с развитием хронических заболеваний дыхательной системы, когда маркером риска является аллель А [4, 5].

Таким образом, на основе результатов проведенного исследования можно предположить, что носительство аллеля А полиморфизма Ile105Val гена *GSTP1* связано с повышенным риском развития ХПБ. Полученные данные могут использоваться с целью прогнозирования развития ХПБ, что позволит выполнить индивидуальные профилактические мероприятия.

Список литературы

1. Анализ ген (CYP1A2, CYP2F1, NQO1, UGT2B7, CAT, GSTP1)-средовых взаимодействий при профессиональном хроническом бронхите / Л.З. Ахмадишина, Г.Ф. Корытина, О.В. Кочетова, Т.В. Викторова // Экологическая генетика. 2014. Т. 12, № 2. С. 47-59.
2. Бабанов С., Будащ Д. Современные подходы к диагностике профессионального бронхита // Врач. 2016. № 2. С. 14-16.
3. Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons / K. Sundberg, A.S. Johansson, G. Stenberg et al. // Carcinogenesis. 1998. Vol. 19, № 3. P. 433-436.
4. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease / T. Ishii, T. Matsuse, S. Teramoto et al. // Thorax. 1999. Vol. 54, № 8. P. 693-696.
5. The association between polymorphic genotypes of glutathione S-transferases and COPD in the Turkish population / M. Calikoglu, L. Tamer, N. Ates Aras et al. // Biochem Genet. 2006. Vol. 44, № 7-8. P. 307-319.

УДК 616-022

Мухамеджанов Э.К., Ерджанова С.С.

Национальный научно-практический центр физической культуры

Алматы

labpharma@mail.ru

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕЗА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

На основании оценки обмена белков, жиров и углеводов при использовании экзогенных и эндогенных пищевых потоков предложен патогенез развития метаболического синдрома и пути его профилактики и лечения.

Ключевые слова: метаболический синдром, биохимия, патогенез, профилактика, лечение.

Mukhamejanov E.K., Erjanova S.S.

National Scientific and Practical Center for Physical Culture

Almaty

BIOCHEMICAL BASIS OF PATHOGENESIS OF METABOLIC SYNDROME

Based on the assessment of the metabolism of proteins, fats and carbohydrates when using exogenous and endogenous food flows, the pathogenesis of the development of metabolic syndrome and the ways of its prevention and treatment are proposed.

Key words: metabolic syndrome, biochemistry, pathogenesis, prevention, treatment.

Введение. Метаболический синдром (МС) по широте распространения принял характер эпидемии неинфекционного происхождения и в настоящее время являются основной причиной высокой заболеваемости и смертности человека. В значительной степени это связано с недостаточным пониманием патогенеза его развития, с чем связана низкая эффективность мероприятий по профилактике и лечению и количество больных из года в год постоянно увеличивается. В механизме развития МС основное внимание уделяют метаболическим характеристикам человека (геномике), характеру его деятельности и питания (стилю жизни), влиянию экологических и географических факторов. Для МС характерно нарушение энергетического гомеостаза, поэтому выяснение причин нарушения его гомеостаза позволит лучше разобраться в патогенезе МС и разработать адекватные технологии по его профилактике и лечению.

Материалы и методы исследования. В работе были использованы результаты собственных исследований и данные литературы за последние десятилетия (PubMed).

Результаты и обсуждение. Главным энергетическим материалом в организме является глюкоза. Это связано с тем, что головной мозг в качестве источника энергии использует исключительно глюкозу и при своей деятельности он расходуется 20% всего количества глюкозы и кислорода [1]. Кроме того, при понижении концентрации глюкозы в крови вдвое ниже нормы (<2 мМ) отмечается недостаточное снабжение мозга энергией и происходит его отключение (мгновенная потеря сознания), а через пять минут происходит уже гибель клеток мозга и смерть, поэтому поддержание гомеостаза глюкозы является важнейшим принципом жизнедеятельности и в его регуляции участвуют все обменные процессы, все системы регуляции. Питание обеспечивает организм строительным, энергетическим и регуляторным материалом, поэтому адекватное его поступление очень важно для протекания всех функций организма. В данном сообщении мы остановимся на принципах взаимосвязи между обменом белков, жиров и углеводов для поддержания гомеостаза глюкозы при использовании экзогенных и эндогенных пищевых потоков (рисунок).

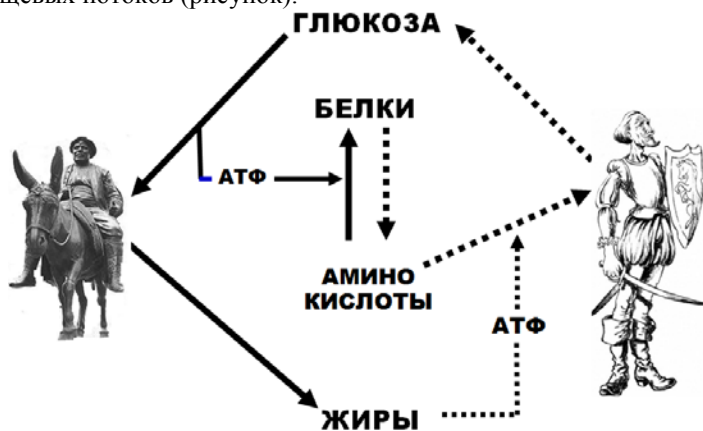


Рис. 1. Модель взаимосвязи между обменом белков, жиров и углеводов в зависимости от транспорта углеродного скелета и этапов взаимосвязи между процессами образования, и утилизации энергии АТФ при использовании экзогенных (сплошные стрелки) и эндогенных (пунктирные стрелки) пищевых потоков для поддержания гомеостаза глюкозы

Наверху модели поставлена глюкоза как основной энергетический материал. В центре модели поставлен обмен белка, который координирует обмен глюкозы и жиров. Внизу модели поставлены жиры, которые выполняют буферную роль при избыточном поступлении энергетических источников. Как видно из рисунка 1, при поступлении экзогенного пищевого потока выявляется коррелятивная зависимость между процессами синтеза белка и окислением глюкозы на уровне утилизации (синтез белка) и синтеза (окислением глюкозы) энергии АТФ.

Поэтому при дефиците в рационе белка снижается величина синтеза белка из-за недостаточности субстрата (аминокислот), что приводит к снижению потребности в энергии АТФ. Это приводит к повышению коэффициента АТФ/АДФ и аллостерическому ингибированию гексокиназы [2] и снижению утилизации глюкозы тканями. Так как мышцы составляют около половины белка организма [3], то они являются основным потребителем глюкозы под влиянием инсулина [4]. Из-за снижения утилизации глюкозы происходит ее увеличение в крови (гипергликемия) и стимулируется секреция инсулина (инсулинемия), т.е. выявляются основные маркеры сахарного диабета (первого компонента МС). Обычно в механизме развития диабета основную роль отводят нарушению углеводного обмена, поэтому все технологии по профилактике и лечению диабета основывались на снижении содержания углеводов в рационе или уменьшения величины их утилизации и повышении скорости их утилизации на физическую активность. Однако человек слабое существо и ему хочется вкусно поесть и полежать на диванчике, поэтому только небольшая часть населения придерживается этих рекомендаций и количество больных с диабетом из года в год только увеличивается.

Под влиянием инсулина активируется процесс липогенеза в результате чего усиливается «сброс» углеродного скелета глюкозы в жиры и отмечается их увеличение в крови (дислипидемия или развивается второй компонент МС), что способствует увеличению их поступлению в адипоциты и развитию ожирения (третьего компонента МС).

Жировая ткань в настоящее время рассматривается как эндокринный орган, который способствует секреции воспалительных цитокинов — ИЛ-6, ФНО, поэтому диабет и ожирение относятся к заболеваниям вялотекущего воспаления [5, 6].

Воспалительные цитокины поступают в печень и стимулируют секрецию С-реактивного белка [7], который способствует повыше-

нию артериального давления и развитию гипертонии (четвертый компонент МС).

Обычно в вопросах профилактики и лечения МС врачи стараются уменьшить проявления каждого его компонента в отдельности, т.е. в принципе используют симптоматологический подход. Поэтому получаем только временное облегчение, но не решается основная проблема.

Исходя из предлагаемой нами модели, основное внимание при профилактике и лечении МС при использовании экзогенного пищевого потока надо уделить технологиям по улучшению процесса синтеза белка. Во-первых, требуется обратить внимание на адекватное поступление субстрата для синтеза белка, так как при дефиците белка в рационе отмечается снижение утилизации и окисления глюкозы и включается каскад метаболических нарушений, которые и приводят к развитию всех компонентов МС.

Во-вторых, необходимо установить соответствие между количеством белка и углеводов. Синтез белка, несомненно, является важнейшим аспектом жизнедеятельности, поэтому должен поддерживаться его уровень. Для получения адекватного количества субстрата повышается аппетит, но это усугубляет проблему ожирения. Однако организм из двух зол выбирает меньшее или ожирение. В этом плане появилось ряд публикаций о парадоксе ожирении, когда у тучных лиц выявлялись нормальные показатели сердечной деятельности [8]. При увеличении в диете белка организм быстрее получает необходимое количество субстрата и быстрее наступает чувство насыщения.

К сожалению, диетологи обращают внимание на сбалансированность лишь экзогенного пищевого потока. Хотя это важный аспект, но несбалансированность эндогенного пищевого потока также важна и в настоящее время это является основной причиной развития МС. В жизни современного человека отмечается преобладание интеллектуальных и операторских видов деятельности (на которые используется преимущественно глюкоза) и снижена физическая активность (на которую преимущественно используются жиры). Это привело к тому, что отмечается избыток жиров на фоне дефицита глюкозы. К сожалению, посредством коррекции экзогенного пищевого потока невозможно изменить соотношение макро-нутриентов в эндогенном пищевом потоке, поэтому человек вынужден постоянно пополнять потребности организма в глюкозе за счет дополнительного приема пищи, но это усугубляет проблему МС. В этом плане надо провести балансировку эндогенного пищевого потока. Для этого требуется:

Во-первых, в период выполнения физической и умственно деятельности принимать субстраты для эндогенного синтеза глюкозы. Так из аминокислот — это глюконеогенная аминокислота аланин, из углеводов — это моносахарид фруктоза или полисахарид инулин (полимер фруктозы). В этот период отмечается развитие несоответствия между величиной окисления жиров (поставщика АТФ) и потребностью в АТФ на процесс глюконеогенеза. В результате этого происходит увеличение коэффициента АТФ/АДФ, что приводит к блокированию окисления жиров на этапе окисления ацетил-КоА. Это приводит к активации конденсирования ацетил-КоА в ацетоацетат и далее в оксипутират и ацетон или стимулируется кетогенез, который может привести к развитию кетонной комы. В медицинской практике обычно в этих случаях применяют инъекции инсулина, который блокирует окисление жиров и предотвращает увеличение коэффициента АТФ/АДФ.

Можно снизить величину кетоза посредством восстановления равновесия коэффициента АТФ/АДФ дачей субстратов для глюконеогенеза — аланина [9] или фруктозы [10]. Хотя эти факты были получены сорок лет назад, но они не были теоретически обоснованы и не нашли применение в клинической практике.

Выводы.

1. Разработана концептуальная модель взаимосвязи между обменом белков, жиров и углеводов при использовании экзогенного и эндогенного пищевых потоков.
2. Направленность обменных процессов в экзогенном и эндогенном пищевых потоках противоположны.
3. Предложены биохимические основы патогенеза МС.
4. В вопросах профилактики и лечения МС при использовании экзогенного пищевого потока основное внимание следует уделить в его сбалансированности в отношении процесса синтеза белка.
5. В вопросах профилактики и лечения МС при использовании эндогенного пищевого потока основное внимание следует уделить его балансировке посредством приема субстратов для глюконеогенеза.

Список литературы

1. Mink J.W., Blumenshine R.J., Adams D.B. Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis // *Am J Physiol.* 1981. V.241. P.R203-212
2. Lenzen S. A Fresh View of Glycolysis and Glucokinase Regulation: History and Current Status // *J Biol Chem.* 2014. V.289. P.12189-12194

3. Frontera W.R., Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function // *Calcif Tissue Int.* 2015. V.96. P.183-195
4. Bonadonna R.C., S.Del Prato, M.P.Saccomani, E.Bonora, G.Gulli, E.Ferrannini, D.Bier, C.Cobelli, R.A.DeFronzo Transmembrane glucose transport in skeletal muscle of patients with non-insulin-dependent diabetes // *J Clin Invest.* 1993. V.92. P.486-494
5. Donath M.Y., Shoelson S.E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease // *Nat Rev Immunol.* 2011. V.11. P.98-107
6. Heilbronn L.K., Campbell L.V. Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity // *Curr Pharm Des.* 2008;14(12):1225-30
7. Mark B. Pepys and Gideon M. Hirschfield C-reactive protein: a critical update // *J Clin Invest.* 2003. V.111. P.1805-1812
8. Carbone S., Canada J.M., Billingsley H.E., Siddiqui M.S., Elagizi A., Lavie C.J. Obesity paradox in cardiovascular disease: where do we stand? // *Vasc Health Risk Manag.* 2019. V.15. P.89-100
9. R.Nosadini, H.Datta, A.Hodson, K.G. M.M.Alberti A possible mechanism for the anti-ketogenic action of alanine in the rat *Biochem J.*-1980. V.190. P.323-332
10. Dietze G., Wicklmayr M., Mehnert H. Antiketogenic action of fructose in man // *Diabetes.* 1978. V.27. P.709-714.

УДК 575.1: 575.113.2

Нониашвили Е.М.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

Санкт-Петербург

Katinka.04@list.ru

**ВЛИЯНИЕ ЛАКТОФЕРРИНА НА РАЗВИТИЕ
ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ МЫШЕЙ В ПРИСУТСТВИИ
БИСФЕНОЛА А IN VITRO**

В работе изучали влияние апо-лактоферрина человека на развитие одноклеточных зародышей мышей до стадии бластоцисты в присутствии экотоксиканта бисфенола А (БФА). Оценку зародышей проводили через 96 часов культивирования в среде, содержащей: 50 мкМ БФА; 50 мкг/мл апо-лактоферрина человека (ЛФ); 50 мкМ БФА+50 мкг/мл ЛФ. Обсуждается способность ЛФ снижать токсический эффект БФА на зародыши.

Ключевые слова: одноклеточные зародыши мышей, бластоцисты, бластомеры, бисфенол А, рекомбинантный апо-лактоферрин человека.

Noniashvili E.M.

Institute of Experimental Medicine
of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

**THE EFFECT OF LACTOFERRIN ON THE DEVELOPMENT OF
PREIMPLANTATION MOUSE EMBRYOS IN THE PRESENCE OF
BISPHENOL A IN VITRO**

Exposure of apo-lactoferrin on preimplantation mouse embryos development in the presence of ecotoxicant bisphenol A (BPA) in vitro was studied. The rate of embryos development were estimated following 96 hours culture of one-cells embryos in the presence of: 50mcM BPA; 0.1mcg/0.1ml apo-lactoferrin (LF); 50 mcM BPA + 50 mcg/0.1ml LF. The ability of LF to reduce the toxic effect of BFA on embryos is discussed.

Key words: one-cells mouse embryos, blastomeres, blastocytes, bisphenol A, recombinant human apo-lactoferrin.

Введение. Лактоферрин (ЛФ), железосвязывающий гликопротеин семейства генов трансферрина, экспрессируется в эпителии слизистой оболочки и присутствует в молоке, слезе, слюне, семенной плазме и секретах матки и влагалища. Это главный белок вторичной гранулы нейтрофила. В организме лактоферрин представлен в железонасыщенной холо-форме и железоненасыщенной апо-форме, которая связывает свободное железо в окружающей среде, тем самым подавляя рост бактерий [1].

Помимо бактериостатических свойств, лактоферрин участвует в модуляции иммунного и воспалительного ответа путем подавления ряда цитокинов, таких как фактор некроза опухоли, интерлейкин-6 и фактор, стимулирующий колонию гранулоцитов-макрофагов [2]. Присутствие лактоферрина в женских половых путях предполагает, что белок может быть частью иммунной системы слизистой оболочки и действовать как первая линия защиты от патогенных организмов [3]. Особый интерес представляют детоксицирующие и антиоксидантные свойства лактоферрина [4].

Бисфенол А (БФА), ксеноэстроген — органическое соединение широко используется в производстве поликарбонатного пластика, эпоксидных смол, упаковочных изделий, а также входит в состав стоматологических композитов, применяемых в зубоорудительной практике [5]. Установлено, что БФА может оказывать вредный эффект на здоровье людей и поэтому представляет потенциальную угрозу для человека. При обследовании популяции людей, находящихся в окружении повышенных доз БФА, обнаружен рост сер-

дечно-сосудистых заболеваний, диабета, дисфункций печени и половых расстройств среди мужчин [6]. Угнетающее действие БФА на активность антиоксидантных ферментов была зафиксирована в головном мозге [7]. Незначительные дозы БФА способны вызывать дисфункцию митохондрий и повышать уровень окислительного стресса через 1-4 часа после воздействия [8]. Установлено, что БФА даже в низких, экологически релевантных дозах влияет на репродуктивные органы млекопитающих и оказывает воздействие на раннее развитие организма, а также на постнатальное развитие. Описано токсическое действие БФА в период пренатального развития на репродуктивную систему млекопитающих [9,10]. Такие отклонения от нормы в раннем развитии, обусловленные БФА, диктуют необходимость изучения его влияния на самое раннее развитие эмбрионов, начиная со стадии зиготы. В предыдущих наших исследованиях было показано, что БФА замедляет дробление преимплантационных зародышей и формирование бластоцист, причем эффект воздействия носил дозозависимый характер [13, 14].

В настоящей работе изучали возможность снижения токсического действия БФА на зародыши посредством ЛФ, обладающего антиоксидантными свойствами.

Материал и методы. Одноклеточные эмбрионы (зиготы) получали от половозрелых самок мышей гибридов F1 (C57BLX CBA) из питомника «Рапполово» после гормональной стимуляции и спаривания их с самцами [14]. Все зиготы, извлеченные из яйцеводов под контролем бинокулярной лупы делили на четыре группы и помещали в культуральную среду M16 (Sigma): первая группа контрольная — интактная среда M16, во второй группе («БФА») в среду добавляли 50 мкМ спиртового раствора БФА (Sigma-Aldrich), в третьей группе («ЛФ») в среду добавляли 50мкг/мл лиофилизированного рекомбинатного апо-лактоферрина человека (БГУ, г. Минск) в растворе фосфатного буфера и в четвертой группе («БФА+ЛФ») в среду добавляли как БФА, так и ЛФ в тех же количествах, что и в предыдущих двух группах. Зародыши в каплях среды под силиконовым маслом культивировали в атмосфере 5% CO₂ в воздухе течение 96 часов. Из всех зародышей, достигших стадии бластоцисты, готовили суховоздушные препараты по модифицированной методике А.П. Дыбана [15].

Результаты и их обсуждение. В таблице 1 представлены средние значения числа blastomerov в зародышах в контрольной и экспериментальных группах. В работе исследовано 93 зародыша на стадии бластоцисты. Наименьшее количество blastomerov наблюдалось в группе «БФА» — 29,6, что намного меньше, чем в группе

«ЛФ» — 39,7. Разница между этими двумя группами составляла 10,1. В группе «ЛФ+БФА» среднее количество blastomeres составляло 36,0. Это меньше, чем в группе «ЛФ», но на 6,4 больше значения в группе «БФА». Количество зародышей в контрольной группе составляло 31,4, что выше показателей в группе БФА и ниже значений в группах «ЛФ» и «ЛФ+БФА».

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Показатели среднего количества blastomeres во всех четырех группах имеют статистически достоверные различия ($p \leq 0,05$).

Таблица 1. Среднее количество blastomeres в зародышах в контрольной и экспериментальных группах

Группа	Контроль	БФА	ЛФ	ЛФ+БФА
Среднее количество blastomeres в зародышах (M±m)	31,47± 3,99	29,68± 2,59	39,70± 4,54	36,0± 2,65

Примечание: M — средний вес, m — стандартная ошибка среднего; $p < 0,05$.

Приведенные выше результаты согласуются с нашими предыдущими данными о влиянии БФА на развитие доимплантационных зародышей [13, 14]. Известны также данные о влиянии БФА на снижение веса у новорожденных детей [16].

Замедление дробления зародышей в группе «БФА» возможно объясняется токсическим воздействием БФА посредством механизмов окислительного стресса [7]. Молекулярные механизмы действия БФА до конца не изучены. Известно, что часть БФА превращается в менее токсичные бисфенолы G и S, оставшиеся молекулы БФА способствуют образованию множества свободных радикалов, в том числе супероксидов, пероксидов и гидроксильных радикалов [8].

Лактоферрин является природным хелатором железа и реализует свои антиоксидантные свойства, находясь в апо-форме. ЛФ ингибирует перекисное окисление липидов путем блокирования образования свободных радикалов [17]. Антиоксидантные свойства экзогенного ЛФ объясняются активацией ферментов антиоксидантной системы. При использовании экзогенного ЛФ увеличивалась экспрессия м РНК антиоксидантных ферментов и общий антиоксидантный статус [18]. Вне зависимости от проис-

хождения ЛФ снижает интенсивность перекисного окисления липидов [19]. Эти свойства ЛФ могут не только способствовать частичному ингибированию токсического действия БФА в группе «ЛФ+БФА», но и форсировать развитие зародышей.

Таким образом, можно предположить возможную протективную роль ЛФ на последствия токсического действия БФА на зародыши в преимплантационный период развития.

Список литературы

1. Sanchez L, Calvo M, Brock JH. Biological role of lactoferrin. // *Cell Biol.* 2002. V. 80. P. 7–16.
2. Legrand D., Pierce A., Elass E., Carpentier M., Mariller C. and J. Mazurier. Lactoferrin structure and functions // *Adv Exp Med Biol.* 2008. V. 606. P. 163-194.
3. Ogra PL, Yamanaka T, Losonsky GA. Local immunologic defenses in the genital tract. // In: Feicher N (ed.), *Reproductive Immunology.* New York: Alan R. Liss. 1981. P. 381–394.
4. Hao L., Shan Q., Wei J., Ma F., Sun P. Lactoferrin: major physiological functions and applications // *Current Protein & Peptide Science.* 2018. V. 20(2). P. 139-144.
5. Brotons JA, Olea-Serrano MF, Villalobos M, Pedraza V, Olea N. Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans // *Environ Heals Perspect.* 1995. V.103. P. 608-12.
6. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M et al. Human exposure to bisphenol A (BPA) // *Reprod Toxicol.* 2007. V. 24. P. 139-177. doi:10.1016/j.reprotox.2007.07.010.
7. Ahmed R.G., Walaa G.H., Asmaa F.S. Suppressive effects of neonatal bisphenol A on the neuroendocrine system // *Toxicol and Health.* 2018. V. 34(6). P. 397-407.
8. Babu S., Uppu S., Claville M.O., Uppu R.M. Prooxidant actions of bisphenol A (BPA) phenoxyl radicals: implications to BPA-related oxidative stress and toxicity // *Toxicology mechanisms and methods.* 2013. V. 23. P. 273–280
9. Golub MS, Wu KL, Kaufman FL. et al. Bisphenol A: developmental toxicity from early prenatal exposure // *Birth Defects Res. (Part B).* 2010. V. 89. P. 441–466. doi: 10.1002/bdrb.20275.
10. Pollock T, de Catanzaro D. Presence and bioavailability of bisphenol A in the uterus of rats and mice following single and repeated dietary administration at low doses. // *Reprod Toxicol.* 2014. V. 49. P. 145-54. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.08.0

11. Olea N, Pulgar R, Perez P et al. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry // *Environ Health Perspect* 1996. V. 104. P. 298-305.
12. Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG vom Saal FS. Exposure of bisphenol A advances puberty // *Nature* 1999. V. 401. P. 763-764.
13. Нониашвили Е.М., Софронов Г.А., Паткин Е.Л. Влияние малых доз бисфенола А на доимплантационное развитие зародышей мышей *in vitro* // *Акад. журнал Западной Сибири* 2013. Т. 9. № 3 (46). С. 100-101.
14. Нониашвили Е.М., Грудина Н.А., Кустова М.Е., и др. Метилирование ДНК в раннем эмбриогенезе мышей под влиянием бисфенола А // *Экологическая генетика*. 2017. Т. 15. № 3. С. 42–53.
15. Dyban A.P. improved method for chromosome preparations from preimplantation mammalian embryos, oocytes or isolated blastomeres // *Stain Technol.* 1983. V. 58(2). P. 69-72. doi:10.3109/10520298309066756
16. Welshons W. V., Nagel S. C., & vom Saal, F. S. Large Effects from Small Exposures. III. Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure // *Endocrinology*. 2006. V. 147(6). P. 56–69.
17. Lindmark-Mansson H., Akesson B. Antioxidative factors in milk // *Br. J. Nutr.* 2000. V. 84 (Suppl. 1). P. 103– 110.
18. Wang Y. Z., Xu, C. L., An, Z. H., Liu, J. X., & Feng, J. Effect of dietary bovine lactoferrin on performance and antioxidant status of piglets // *Animal Feed Science and Technology*. 2008. V. 140. P. 326-336.
19. Sandomirsky B.P., Galchemko S.E., Galchenko, K.S. Antioxidative properties of lactoferrin from bovine colostrums before and after its lyophilization // *Cryoletters*. 2003. V. 24. P. 275–280.

Перепечай А.А., Дяченко В.Д.
ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный
педагогический университет»
Луганск, ЛНР
chem.post@yandex.com, dyachvd@mail.ru

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 1,6-НАФТИРИДИНОВ (ОБЗОР)

В статье рассматриваются биологически активные производные 1,6-нафтиридинов, обладающие модулирующим действием в отношении различных ферментов.

Ключевые слова: 1,6-нафтиридины, биологическая активность, ингибиторы, модуляторы.

Perepechay A.A., Dyachenko V.D.
Lugansk State Pedagogical University
Lugansk, LPR

BIOLOGICALLY ACTIVE 1,6-NAPHTHYRIDINE DERIVATIVES (REVIEW)

Biologically active 1,6-naphthyridine derivatives with modulation properties what affect on different enzymes are considered in the article.

Key words: 1,6-naphthyridines, biological activity, inhibitors, modulators.

В литературе, посвященной методам получения функциональных 1,6-нафтиридинов, нередко встречаются данные об их биологической активности. В большинстве своем она обусловлена ингибирующими свойствами этих гетероциклов в отношении ферментов, с функционированием которых связано нормальное или паталогическое протекание процессов в организме.

Так, при лечении ожирения, диабета, психотических и шизофренических расстройств используются препараты, являющиеся ингибиторами фосфодиэстеразы 10А (PDE10A). К таким соединениям относятся производные 4-гидрокси-1,6-нафтиридин-3-карбонитрила **1** и пиазоло[5,1-*f*][1,6]нафтиридины **2**, обладающие высоким сродством к вышеупомянутому ферменту (рис. 1) [1, 2].

Полизамещенные 1,6-нафтиридиноны **3** ингибируют тимидилаткиназу *M. tuberculosis* (Mtb ТМК), поэтому препараты на их основе могут использоваться в лечении туберкулеза (рис. 2) [3].

Ковалентно-аллостерические ингибиторы на основе 1,6-нафтиридинов **4** являются сильнодействующими модуляторами

протеинкиназы В (Atk), изменения и нарушения сигнального пути которой связаны с различными типами опухолей, таких как рак легких, предстательной железы, шейки матки, меланома (рис. 3) [4].

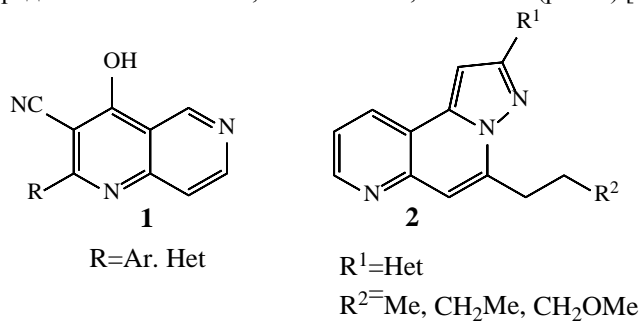


Рис. 1.

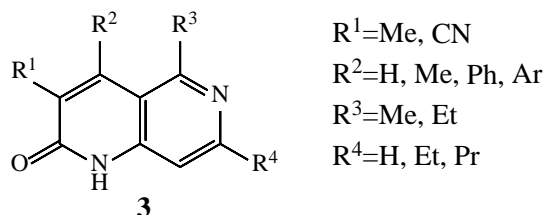


Рис. 2.

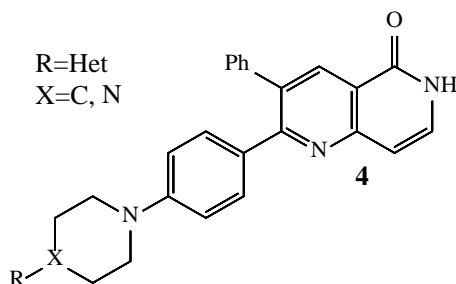


Рис. 3.

Тирозинкиназа участвует в нескольких клеточных процессах, включая пролиферацию клеток, миграцию клеток и инвазивный рост. Однако нарушение ее регуляции может привести к онкогенезу и метастазированию. Соединения с нафтиридиновым каркасом **5** демонстрируют наномолярное ингибирование активности тирозинкиназы и обладают высокой растворимостью и эффективностью *in vivo* (рис. 4) [5].

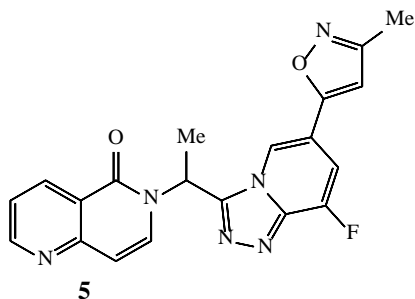


Рис. 4.

3,5-Дизамещенный-1,6-нафтиридин **6** обладает антипролиферативной активностью ввиду своего ингибирующего действия тирозин-протеин киназы c-Met (рис. 5) [6].

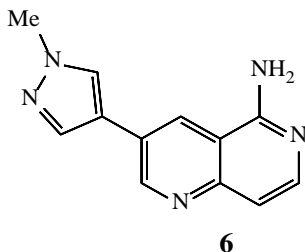


Рис. 5.

10-Метоксидibenzo[*b,h*][1,6]нафтиридинкарбоновая кислота **7** является ингибитором PDPK1, что обуславливает ее противоопухолевую активность в отношении линии раковых клеток A549 (рис. 6) [7].

Киназы CDK8 CDK19 участвуют в регуляции множества путей транскрипции. CDK8 участвует как онкоген при колоректальном раке и раке желудка. Исследования *in vivo* при пероральном применении 2,8-дизамещенных 1,6-нафтиридины **8** показали их ингибирующую активность в отношении CDK8/19 (рис. 7) [8].

Нарушение регуляции янус-киназы 2 (JAK2) приводит к миело-пролиферативным заболеваниям, включая истинную полицитемию, эссенциальную тромбоцитемию и первичный миелофиброз. Исследования *in vivo* функционального 1,6-нафтиридинона **9** показали его эффективность в ингибировании JAK2. Дальнейшие исследования показали, что и трициклическая система **10** обладает подобным эффектом (рис. 8) [9; 10].

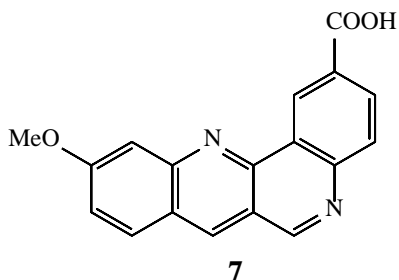


Рис. 6.

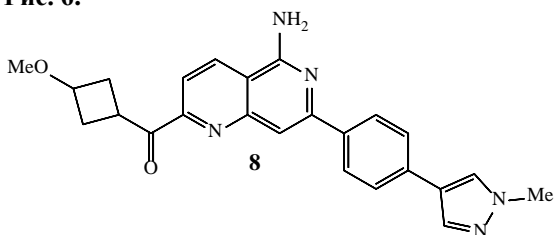


Рис. 7.

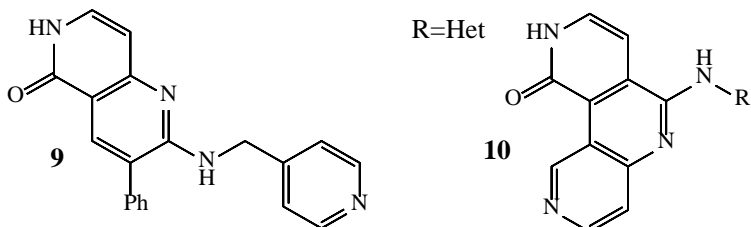


Рис. 8.

Интеграза ВИЧ-1 (IN) — ключевой фермент, вовлеченный в процесс заражения клеток вирусом иммунодефицита человека, поэтому она является привлекательной мишенью для разработки лекарств против СПИДа. Производные 1,6-нафтиридина **11** и **12** не только подавляют каталитическую активность IN, но также проявляют значительную цитотоксичность (рис. 9) [11; 12].

Дибензо[*c,h*][1,6]нафтиридиноны **13** представляют собой соединения с ингибирующей активностью в отношении топоизомеразы I ДНК (TOP1), что позволяет применять их в качестве противоопухолевых средств (рис. 10) [13].

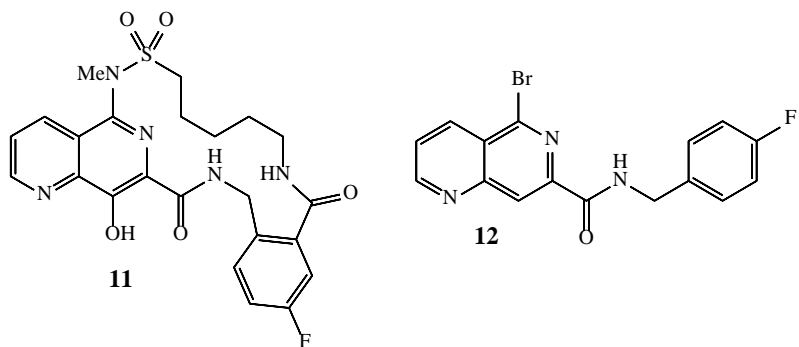


Рис. 9.

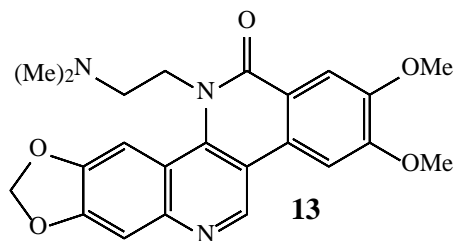


Рис. 10.

Сульфонамиды, содержащие тетрагидропирроло[1,6]нафтиридины **14**, могут использоваться в качестве аллостерических усилителей рецепторов глицина (GlyR), активация которых снижает передачу болезненных раздражителей. Такие обезболивающие лекарственные препараты не имеют нежелательных седативных и психотропных побочных эффектов (рис. 11) [14].

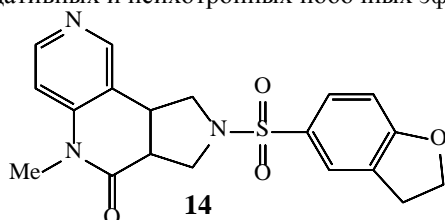


Рис. 11.

ГАМК_A-рецептор играет роль в развитии таких заболеваний, как навязчивые обсессивно-компульсивные расстройства, мигрень, депрессия, некоторые симптомы шизофрении. Некоторые соединения на основе 1,6-нафтиридинов, такие как **15** способны модулировать ГАМК_A с высокой селективностью (рис. 12) [15].

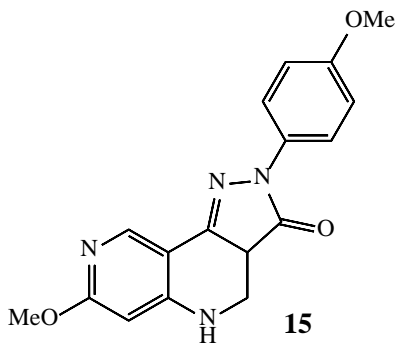


Рис. 12.

Ряд производных 1,6-нафтиридина **16** обладают ингибирующей активностью в отношении бромдоменов (BRD), которые опосредованно регулируют транскрипцию генов и удлинение мРНК, что имеет терапевтическую перспективу при некоторых заболеваниях. Так, исследования на мышах показало, что препараты на основе нафтиридинов обладают хорошей растворимостью и противовоспалительной активностью (рис. 13) [16].

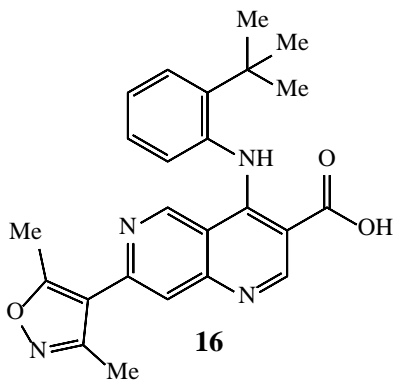


Рис. 13.

Хромено[4,3,2-*de*][1,6]нафтиридин-4-карбонитрилы **17** способны интеркалировать с додекамером Дрю-Дикерсона в ДНК и поэтому могут быть использованы в терапии рака (рис. 14) [17].

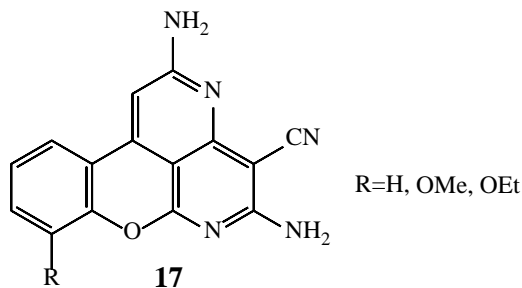


Рис. 14.

Из вышеизложенного следует, что биологическая активность рассмотренных производных 1,6-нафтиридинов обусловлена их эстеразо-, киназо-, интегразо-, томоизомеразомодулирующей способностью, а также их умением специфически связываться с различными рецепторами, тем самым регулируя сложные процессы внутри клетки.

Список литературы

1. Discovery of 4-hydroxy-1,6-naphthyridine-3-carbonitrile derivatives as novel PDE10A inhibitors / U. Bauer [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012. № 22. P. 1944–1948.
2. Synthesis and SAR study of novel tricyclic pyrazoles as potent phosphodiesterase 10A inhibitors / A. Dore [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* 2014. № 84. P. 181–193.
3. Structure guided lead generation for *M. tuberculosis* thymidylate kinase (Mtb TMK): discovery of 3-cyanopyridone and 1,6-naphthyridin-2-one as potent inhibitors / M. Naik [et al.] // *J. Med. Chem.* 2015. № 58 (2). P. 753–766.
4. Structural and chemical insights into the covalent-allosteric inhibition of the protein kinase Akt / N. Uhlenbrock [et al.] // *Chemical Science.* 2019. № 10. P. 3573–3585.
5. Discovery of (R)-6-(1-(8-fluoro-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3-yl)ethyl)-3-(2-methoxyethoxy)-1,6-naphthyridin-5(6H)-one (AMG 337), a potent and selective inhibitor of MET with high unbound target coverage and robust in vivo antitumor activity / A.A. Boezio [et al.] // *J. Med. Chem.* 2016. № 59 (6). P. 2328–2342.
6. Design and synthesis of novel substituted naphthyridines as potential c-Met kinase inhibitors based on MK-2461 / J.-F. Wu [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015. № 25. P. 3251–3255.

7. Structure-based design, synthesis, biological evaluation, and molecular docking of novel 10-methoxy dibenzo[b,h][1,6]naphthyridinecarboxamides / K.N. Vennila [et al.] // *Med. Chem. Res.* 2021. № 30 (1). P. 1–9.
8. 2,8-Disubstituted-1,6-naphthyridines and 4,6-disubstituted isoquinolines with potent, selective affinity for CDK8/19 / A. Mallinger [et al.] // *ACS Med. Chem. Lett.* 2016. № 7 (6). P. 573–578.
9. The discovery of tricyclic pyridone JAK2 inhibitors. Part 1: Hit to lead / T. Siu [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010. № 20. P. 7421–7425.
10. The discovery of reverse tricyclic pyridone JAK2 inhibitors. Part 2: Lead optimization / T. Siu [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014. № 24. P. 1466–1471.
11. Copper-Catalyzed C–N Coupling in the Synthesis of Integrase Inhibitors of Immunodeficiency Viruses / J. Lin [et al.] // *Org. Process Res. Dev.* 2014. № 18. P. 205–2014.
12. Repositioning HIV-1 integrase inhibitors for cancer therapeutics: 1,6-naphthyridine-7-carboxamide as a promising scaffold with drug-like properties / L.-F. Zeng [et al.] // *J. Med. Chem.* 2012. № 55. P. 9492–9509.
13. Design, synthesis, and evaluation of dibenzo[c,h][1,6]naphthyridines as topoisomerase I inhibitors and potential anticancer agents / E. Kiselev [et al.] // *J. Med. Chem.* 2010. № 53. P. 8716–8726.
14. The discovery and hit-to-lead optimization of tricyclic sulfonamides as potent and efficacious potentiators of glycine receptors / H. Bregman [et al.] // *J. Med. Chem.* 2017. № 60 (3). P. 1105–1125.
15. Design and synthesis of novel deuterated ligands functionally selective for the γ -aminobutyric acid type A receptor (GABAAR) $\alpha 6$ subtype with improved metabolic stability and enhanced bioavailability / D.E. Knutson [et al.] // *J. Med. Chem.* 2018. № 61. P. 2422–2446.
16. Naphthyridines as novel BET family bromodomain inhibitors / O. Mirguet [et al.] // *ChemMedChem.* 2013. № 8. P. 1–11.
17. Synthesis and docking studies of three new diaminochromenes as potential leads for anticancer drugs / M. Nogueira [et al.] // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2023. № 39 (14). P. 5005–5013.

УДК 616.24-007.272-036.12-055.1/.2-053:616-005.4

Самохина Л.М., Антонова И.В.

ГУ «Национальный институт терапии им. Л.Т. Малой НАМН
Украины»

Харьков, Украина

lub.samokhina@gmail.com

**ОТДЕЛЬНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
ПРОЯВЛЕНИЯ ОБОСТРЕНИЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ
БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ, СОЧЕТАННОЙ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ
СЕРДЦА**

Развитие обострений хронической обструктивной болезни легких у пациентов с ишемической болезнью сердца сопровождается возраст и пол-зависимыми изменениями общей антиоксидантной активности, что может быть обусловлено прооксидантными процессами, истощением низкомолекулярного антиоксидантного звена, и требует дифференцированного назначения антиоксидантов женщинам пожилого возраста.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, обострения, ишемическая болезнь сердца, возраст, мужчины, женщины, общая антиоксидантная активность.

Samokhina L.M., Antonova I.V.

National Institute of Therapy of L.T. Malaya name of NAMS of Ukraine
Kharkov, Ukraine

**SEPARATE AGE AND GENDER FEATURES OF EXACERBATIONS OF
CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE COMBINED WITH
ISCHEMIC HEART DISEASE**

The development of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations in patients with coronary heart disease is accompanied by age-dependent and sex-dependent changes in the total antioxidant activity, which may be due to prooxidant processes, depletion of low molecular weight antioxidant, and requires a differentiated prescription of antioxidants in elderly women.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, exacerbations, ischemic heart disease, age, men, women, total antioxidant activity.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) представляет собой дистресс-респираторное заболевание [Vrandt, 2018]. Основными событиями в процессе заболевания являются обострения [Leo, 2019]. Они негативно влияют на качество жизни и прогрессирование заболевания, к тому же частые обострения ХОБЛ связаны

с повышенной смертностью. При этом риск формирования клинической группы D с тяжелым течением и частыми обострениями определяют полиморфные варианты гена 2-й фазы системы детоксикации Ile105Val глутатионтрансферазы GSTP1 [Крахмалова, 2020]. При этом у гетерозигот по 2-м генам A/G GSTP1 и T/C микросомальной эпоксидгидролазы (EPHX1) существенное повышение общей антиоксидантной активности (ОАА) может обеспечивать интенсивность процессов глутатион-опосредованной детоксикации и способствовать резистентности клеток к перекисному окислению липидов, воздействию свободных радикалов и повреждению ДНК [Самохина, 2020]. Низкие значения ОАА, у гомозигот по двум генам A/A GSTP1, T/T EPHX1, больных с нечастыми обострениями ХОБЛ и у гетерозигот по одному гену A/G GSTP1, C/C EPHX1 с частыми обострениями связывают с возможностью прогрессирования ХОБЛ в сочетании с ишемической болезнью сердца (ИБС).

Исследования последних лет также указывают и на возрастные особенности ХОБЛ, увеличение распространенности ХОБЛ у пожилых людей [Brandt, 2018]. У пациентов снижается активность защитной антиоксидантной системы, и даже при низкой продукции активных форм кислорода клетками, метаболиты O₂ способны участвовать в воспалительном процессе [Фархутдинов, 2018]. Указывают и на гендерные различия клинической картины течения ХОБЛ [MeiLan, 2020]. У женщин отмечают высокую восприимчивость к негативному воздействию табака, которую обуславливают анатомо-физиологическими особенностями дыхательной системы и циклической гормональной активностью, частое развитие болезни в среднем возрасте, частые жалобы на интенсивную одышку, тяжелое течение болезни с частыми обострениями, существенное снижение качества жизни на ранних стадиях болезни [Кытикова, 2019].

По данным GOLD 2016 г. отмечено влияние сопутствующих заболеваний, в том числе ИБС, на течение обострения [Медведев, 2013].

Цель работы: провести анализ ОАА в сыворотке крови больных ХОБЛ с различной частотой обострений и сопутствующей ИБС с учетом возраста, пола.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили среди амбулаторных пациентов в клинике ГУ «Национальный институт терапии им. Л.Т.Малой НАМН Украины». Обследовано 105 больных ХОБЛ в сочетании с ИБС, из них 3 женщины без обострений 60-72 лет, 49 пациентов — с нечастыми обострениями ХОБЛ (42 мужчин 45-81 лет и 7 женщин 56-73 лет) и 53 — с частыми обострениями (28 мужчин 37-84 лет и 25 женщин 41-80 лет). Паци-

ентами с ХОБЛ, склонными к частым обострениям, согласно GOLD (Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, 2016, 2017), принято считать больных с ≥ 2 эпизодами обострений в течение календарного года. Контрольная группа — 12 практически здоровых лиц, без признаков кардиореспираторной патологии (5 мужчин 35-48 лет и 7 женщин 34-56 лет). Деление обследованных проводили согласно возрастной периодизации взрослого человека: зрелый (средний) возраст (мужчины 22-60 лет и женщины 21-55 лет), пожилой возраст: 56/61 — 75 лет, старческий возраст: 76–90 лет.

Наличие и степень тяжести ХОБЛ устанавливали в соответствии с критериями GOLD (Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, 2018), диагноз ИБС согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов (The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology and European Atherosclerosis Society, 2011). В исследование были включены пациенты с ХОБЛ I-III степени тяжести нарушения бронхиальной проходимости и стабильной стенокардией II-III функционального класса. Не включали больных ХОБЛ в фазе обострения, с острой инфекцией; пневмонии исключали рентгенологическим исследованием лёгких.

Всем больным проведено общеклиническое обследование, которое включало оценку выраженности одышки mMRC (modified Medical Research Council), Борга, расчет анамнеза курения, толерантность к физической нагрузке, насыщенность крови кислородом. Исследование функции внешнего дыхания проводили утром натошак на аппарате «Спироком профессиональный» (Украина) ТУ У 33.1-02066769-005-2002 № 258. Клинические симптомы были выражены практически у всех больных: по шкале mMRC (≥ 2) и оценочному тесту ХОБЛ (CAT ≥ 10). От всех обследованных лиц было получено информированное согласие на участие в исследовании и использование их биопроб.

ОАА определяли в сыворотке крови микроспектрофотометрическим методом [Kambayashi, 2009]. В исследовании использовали 2,2-азино-ди(3-этилбензтиазолин)-6-сульфоновую кислоту, тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту), миоглобин производства Sigma-Aldrich (США), полистироловые планшеты (КИМА, Италия), остальные реагенты отечественного производства. Статистическая обработка проведена с использованием t-критерия Стьюдента и программного обеспечения «Microsoft Excel» 2003 г. (11.8412.8405 SP3), а также непараметрического U-критерия Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение. Отмечено, что у мужчин с нечастыми обострениями ХОБЛ имеется тенденция к повышению ОАА по сравнению с контролем, а затем — к снижению ОАА при увеличении числа обострений (таблица).

Таблица. Общая антиоксидантная активность (ОАА) у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и ишемической болезнью сердца с учетом частоты обострений ХОБЛ, пола и возраста

Исследуемая группа	Мужчины			Женщины		
	возраст	n	ОАА, мкМ M±m	возраст	n	ОАА, мкМ M±m
Контроль	35–48	5	387,5±81,5	34–56	7	396,4±20,7
0 — без обострений		–		60–72	3	291,6±65,0■
1 — фенотип ХОБЛ с нечастыми обострениями	45–60	21	416,3±34,8		–	
	61–74	16	425,8±105,6	56–73	7	273,6±43,5***
	76–81	5	415,0±32,2		–	
2 — фенотип ХОБЛ с частыми обострениями	37–60	8	317,2±40,5	41–54	5	489,5±113,4
	61–74	13	356,7±27,1	59–73	14	289,8±30,6***
	76–84	4	252,5±47,6□	77–80	3	347,5±54,4□
3-4 — фенотип ХОБЛ с частыми обострениями	66–70	3	341,7±96,1□	58–66	3	350,0±14,4□

Примечание. *** — степень вероятности различий по сравнению с контролем <0,001 согласно t-критерия Стьюдента, ■ — <0,05, □ — >0,05 согласно U-критерия Манна-Уитни.

У женщин наблюдали низкие уровни ОАА у пожилого возраста, достоверно в группах без обострений и с 1, и 2 обострениями. При этом у женщин меньшая история воздействия курения по сравне-

нию с мужчинами, например 2 из 7 в группе с одним обострением, тогда как у мужчин более 50 % курящих (не показано). Кроме того, у женщин в группе с 2 обострениями по сравнению с мужчинами меньшая степень тяжести патологического состояния ХОБЛ и ИБС (ХОБЛ II степени тяжести и стабильная стенокардия II функционального класса). Женщины имеют более выраженные клинические симптомы, по сравнению с мужчинами, больными ХОБЛ, несмотря на меньшую историю воздействия курения. Влияние сигаретного дыма связывают с притуплением адаптивного ответа, снижением деформабельности нейтрофилов, при этом индекс курения у мужчин с ХОБЛ не связывают с ОАА [Крахмалова, 2018]. С дальнейшим отягощением ХОБЛ+ИБС изменения ОАА менее выраженные, что может быть обусловлено противовоспалительными эффектами стандартной терапии, которые сопровождаются повышением ОАА [Cazzola, 2017]. Тенденция к снижению ОАА с возрастом у мужчин, перенесших 2 обострения, может быть связана с недостаточностью половых гормонов [Верткин, 2013]. Низкая ОАА у пожилых женщин без обострений может быть обусловлена особенностью нарушений вентилиционной функции легких, выраженным ограничением бронхиальной проводимости на уровне периферических бронхов [Авраменко, 2013]. Предполагают также, что свободная масса тела, которая ниже у женщин, связана с более низкой диффузионной способностью и большей одышкой [Aryal, 2014]. Снижение ОАА у женщин ХОБЛ+ИБС пожилого возраста может быть связано и с увеличением маркеров воспаления, обусловленным различиями в составе тела [MeiLan, 2020]. Женщины имеют больший риск обострений [Lisspers, 2019, MeiLan, 2020], но лучший исход при острых обострениях [Aryal, 2014].

Снижение ОАА требует включения в лечебные схемы препаратов с антиоксидантной активностью [Крахмалова, 2018]. Эффективными в лечении ХОБЛ считают кверцетин, супероксиддисмутазу; для клинического применения одобрены N-ацетилцистеин, AEOL-10150; полезными считают модуляторы NO и др. При наличии кардиореспираторной патологии, когда реакции свободно-радикального окисления усиливаются, предлагают использовать аскорил, комбинацию ингибитора фосфодиэстеразы 4 типа и кверцетина.

Заключение. Анализ ОАА в сыворотке крови больных ХОБЛ с различной частотой обострений и сопутствующей ИБС с учетом возраста, пола позволит обеспечить дифференцированный подход к назначению антиоксидантов без проведения генетических исследований.

Список литературы

1. Авраменко Л.П., Болотнова Т.В. Особенности хронической обструктивной болезни легких у женщин // Тюменский медицинский журнал. 2013. Т. 15(2). С. 3-5. <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-hronicheskoy-obstruktivnoy-bolezni-legkih-u-zhenschin/viewer> (дата обращения: 24.06.2021).
2. Верткин А.Л., Моргунов Л.Ю., Шахманаев Х.А. Гипогонадизм и хроническая обструктивная болезнь легких // Урология: научно-практический журнал. 2013. N 5. С. 116-122. <https://urologyjournal.ru/ru/archive/article/12199> (дата обращения: 24.06.2021).
3. Крахмалова Е.О., Самохина Л.М., Харченко Ю.Е. Антиоксидантная активность у пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких и ишемической болезнью сердца // Укр. терапевт. журн. 2018. N 3. С. 62-72. http://nbuv.gov.ua/UJRN/UTJ_2018_3-4_12 (дата обращения: 24.06.2021).
4. Крахмалова О.О., Гетман О.А., Колеснікова О.М., Антонова І.В., Самохіна Л.М. Поліморфізм гену системи антиоксидантного захисту *Pe105Val* глутатіонтрансферази *GSTP1* в групах хворих на ХОЗЛ та ІХС з різними фенотипами ХОЗЛ // *Znanstvena misel journal*. 2020. Vol. 2(42). P. 41-47. <https://www.znanstvena-journal.com/wp-content/uploads/2020/05/Znanstvena-misel-journal-%E2%84%9642-2020-VOL.2.pdf> (дата обращения: 24.06.2021).
5. Кытикова О.Ю., Гвозденко Т.А., Кнышова В.В. Хроническая обструктивная болезнь легких у женщин // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2019. Вып. 72. С. 103-111. https://doi.org/10.12737/artide_5d0ad13e586137.59996983 (дата обращения: 24.06.2021).
6. Медведев Д.С., Янова О.А., Молодцова И.Д. Оксидантный статус при возрастной патологии и динамика его показателей под влиянием электромагнитного излучения миллиметрового диапазона // Фундаментальные исследования. 2013. N 9, часть 5. С. 861-865; URL: <http://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=32780> (дата обращения: 24.06.2021).
7. Самохина Л.М., Крахмалова Е.О., Антонова И.В., Щенявская Е.Н. Общая антиоксидантная активность у пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких (ХОЗЛ) и ишемической болезнью сердца с учетом частоты обострений ХОЗЛ и полиморфизма генов глутатионтрансферазы P1 и микросомальной эпоксидгидролазы // Лечебное дело (Беларусь). 2020. N 5. С. 35-39.

https://www.researchgate.net/publication/349319133_lech_delo_5_2020#fullTextFileContent (дата обращения: 24.06.2021).

8. Фархутдинов У.Р., Амирова Э.Ф., Фархутдинов Р.Р. Генерация активных форм кислорода и общий антиоксидантный статус крови при хронической обструктивной болезни легких и ее сочетании с внебольничной пневмонией // Пульмонология. 2018. Т. 28(3). P. 307-312. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-3-307-312> (дата обращения: 24.06.2021).

9. Aryal Sh., Diaz-Guzman E., Mannino D.M. Influence of sex on chronic obstructive pulmonary disease risk and treatment outcomes // *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2014. Vol. 9. P. 1145–1154. doi: 10.2147/COPD.S54476

10. Brandt N.J., Cook H. Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Older Adults: Part I: Case Study // *J Gerontol Nurs*. 2018. Vol. 44(7). P. 10-14. doi: 10.3928/00989134-20180614-04

11. Cazzola M., Calzetta L., Facciolo F., Rogliani P., Matera M.G. Pharmacological investigation on the anti-oxidant and anti-inflammatory activity of N-acetylcysteine in an ex vivo model of COPD exacerbation // *Respir. Res*. 2017. Vol. 18(1). P. 26. doi: 10.1186/s12931-016-0500-y

12. Kambayashi Y., Binh N.T., Asakura H.W., Hibino Y., Hitomi Y., Nakamura H., Ogino K. Efficient Assay for Total Antioxidant Capacity in Human Plasma Using a 96-Well Microplate // *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2009. Vol. 44(1). P. 46–51. doi: 10.3164/jcbrn.08-162

13. Leo F., Menger H. Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease — Diagnostic Approach, Management and Follow-up Care // *Dtsch Med Wochenschr*. 2019. Vol. 144(1). P. 21-27. doi: 10.1055/a-0723-4172 [in German]

14. Lisspers K., Larsson K., Janson C., Ställberg B., Tsiligianni I., Gutzwiller F.S., Mezzi K., Bjerregaard B.K., Jorgensen L., Johansson G. Gender differences among Swedish COPD patients: results from the ARCTIC, a real-world retrospective cohort study // *NPJ Prim Care Respir Med*. 2019. Vol. 29. P. 45. doi: 10.1038/s41533-019-0157-3

15. MeiLan K. Han Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Women: A Biologically Focused Review with a Systematic Search Strategy // *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2020. Vol. 15. P. 711–721. doi: 10.2147/COPD.S237228.

*Степочкина А.М.,^{1,2} Бахтыков А.А.,¹ Деркач К.В.,¹
Шарова Т.С.,¹ Голованова Н.Э.,² Лебедев И.А.,¹ Шпаков А.О.¹*

¹ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии наук»

Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный университет

Санкт-Петербург

annastepochkina23.11@mail.ru

**РАЗНОНАПРАВЛЕННЫЕ ВЛИЯНИЯ МЕТФОРМИНА НА
СТЕРОИДОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ АГОНИСТОВ РЕЦЕПТОРА
ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА У ДИАБЕТИЧЕСКИХ САМЦОВ
КРЫС**

Стимулирующий продукцию тестостерона эффект хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и ТПОЗ, аллостерического агониста рецептора лютеинизирующего гормона, ослабляется у самцов крыс с диабетом 2-го типа. Лечение метформином восстанавливает продукцию тестостерона и усиливает стероидогенный эффект ХГЧ и ТПОЗ при их однократном введении, но не влияет на него при введении препаратов в течение 3-5 дней.

Ключевые слова: диабет, метформин, тестостерон, аллостерический агонист, хорионический гонадотропин.

*Stepochkina A.M.,^{1,2} Bakhtyukov A.A.,¹ Derkach K.V.,¹
Sharova T.S.,¹ Golovanova N.E.,² Lebedev I.A.,¹ Shpakov A.O.¹*

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

²St. Petersburg State University, St. Petersburg

**DIFFERENT INFLUENCE OF METFORMIN ON THE STEROIDOGENIC
EFFECT OF LUTEINIZING HORMONE RECEPTOR AGONISTS IN DIABETIC
MALE RATS**

The stimulating effect of human chorionic gonadotropin (hCG) and TP03, an allosteric agonist of the luteinizing hormone receptor, on testosterone production is impaired in male rats with type 2 diabetes mellitus. The treatment with metformin restores testosterone production and enhances the steroidogenic effect of hCG and TP03 when administered once, but does not affect it when drugs are administered for 3-5 days.

Key words: diabetes, metformin, testosterone, allosteric agonist, chorionic gonadotropin.

Метформин является препаратом первой линии выбора при лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД2). В основе терапевтического эффекта метформина лежит его способность восстанавливать чувствительность тканей к инсулину, нормализовать индуцированную глюкозой продукцию инсулина панкреатическими β -клетками, улучшать глюкозный и липидный обмен, что приводит к снижению гипергликемии, гиперинсулинемии и дислипидемии, основных патогенетических факторов СД2. Восстанавливающий эффект метформина на метаболические и гормональные показатели предотвращает многие осложнения СД2, в первую очередь со стороны сердечно-сосудистой и выделительной систем [1]. В последние годы появились данные о том, что метформиновая терапия положительно влияет и на функции репродуктивной системы [2]. Так, у экспериментальных животных с СД2 и у мужчин с СД2 терапия метформинем приводит к частичному восстановлению сперматогенной функции и повышению фертильности [2]. Имеются основания считать, что это происходит вследствие усиления стероидогенного ответа семенников на лютеинизирующий гормон (ЛГ). Однако влияние метформиновой терапии на стероидогенные эффекты агонистов рецептора ЛГ при СД2 остается мало изученным. Ранее нами было показано, что стимулирующий продукцию тестостерона эффект хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) усиливается при лечении крыс с СД2 с помощью метформина [3]. При этом данные о влиянии метформиновой терапии на стероидогенные эффекты гонадотропинов при их длительном введении отсутствуют. Совершенно не исследовано влияние метформиновой терапии на стероидогенные эффекты низкомолекулярных аллостерических агонистов рецептора ЛГ, которые, в отличие от гонадотропинов, связываются с аллостерическим сайтом, расположенным внутри трансмембранного домена рецептора. Следует отметить, что нами ранее разработана серия таких агонистов на основе структуры гетероцикла тиено[2,3-d]-пиримидина, в том числе один из наиболее активных аналогов ТП03 [4,5]. Целью работы было изучить влияние четырехнедельной терапии метформинем (120 мг/кг в сутки) на стероидогенные эффекты ХГЧ и ТП03 при их однократном и многодневном введении самцам крыс с СД2.

Все эксперименты с самцами крыс Wistar (возраст в начале эксперимента два месяца) осуществляли по правилам, разработанным и утвержденным Комитетом по биоэтике ИЭФБ РАН, и в соответствии с требованиями "European Communities Council Directive 1986" (86/609/ЕЕС). СД2 вызывали высокожировой диетой и низкой дозой стрептозотоцина («Sigma», США), как описано ранее [6]. Продолжи-

тельность диеты — 9 недель до инъекции стрептозотоцина (25 мг/кг, в/б) и еще 6 недель после нее, контроль вместо высокожировой диеты получал стандартный сухой корм и вместо стрептозотоцина — инъекцию его растворителя (0,1 М цитратного буфера, pH 4,5). Развитие СД2 оценивали по уровню глюкозы и гликированного гемоглобина (HbA1c) в крови и по результатам глюкозотолерантного теста (ГТТ), в ходе которого животным в/б вводили глюкозу (2 г/кг) и в течение 120 мин оценивали концентрацию глюкозы в крови. Уровень глюкозы оценивали с помощью тест-полосок «One Touch Ultra» (США) и глюкометра «Life Scan Johnson & Johnson» (Дания), уровень HbA1c — с помощью набора «Multi Test HbA1c System» («Pol-umer Technology Systems, Inc.», США). Диабетическими считали крыс с уровнем глюкозы через 120 мин после глюкозной нагрузки >7 мМ, содержанием HbA1c $>5.5\%$ и нарушенной толерантностью к глюкозе. За четыре недели до окончания эксперимента случайным образом формировали три группы животных — контроль (К), диабет без лечения (Д) и диабет с лечением метформином (ДМ) (в каждой группе $n=18$). Метформин вводили через зонд в суточной дозе 120 мг/кг. За 5 дней до окончания эксперимента каждую группу разделяли на три подгруппы, в каждой из которых было по шесть животных. Подгруппам К0, Д0 и ДМ0 в течение 5 дней вводили ДМСО (растворитель ТП03), подгруппам КХГ, ДХГ и ДМХГ — ХГЧ в суточной дозе 20 МЕ/крысу, подгруппам КТП, ДТП и ДМТП — ТП03 в суточной дозе 15 мг/кг. В 1-й и 5-й дни обработки уровень тестостерона в крови измеряли до инъекции агониста рецептора ЛГ и через 60, 180 и 300 мин после нее, на 2–4-й дни — только через 180 мин после инъекции. Для этого использовали набор «Тестостерон-ИФА» («Алкор-Био», Россия). Статистический анализ проводили с помощью программы «Microsoft Office Excel 2007». Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро–Уилка. Для сравнения выборок с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента. Достоверными считали отличия при $p<0,05$. Данные представляли как $M\pm SEM$.

Перед началом обработки агонистами рецептора ЛГ масса тела в диабетической группе была выше, чем в контроле (376 ± 38 vs. 337 ± 29 г, $p<0,05$). Лечение метформином приводило к ее снижению (354 ± 34 г, $p>0,05$ в сравнении с контролем). В диабетической группе уровень глюкозы через 120 мин после нагрузки и содержание HbA1c были выше, чем в контроле (глюкоза: $10,5\pm 2,0$ vs. $5,2\pm 0,7$ мМ, $p<0,05$; HbA1c: $8,1\pm 1,5$ vs. $4,5\pm 0,4$ %, $p<0,05$), и снижались в группе с лечением метформином ($6,9\pm 1,3$ мМ и $5,7\pm 1,1$ %, $p<0,05$ по сравнению с контролем и диабетической группой).

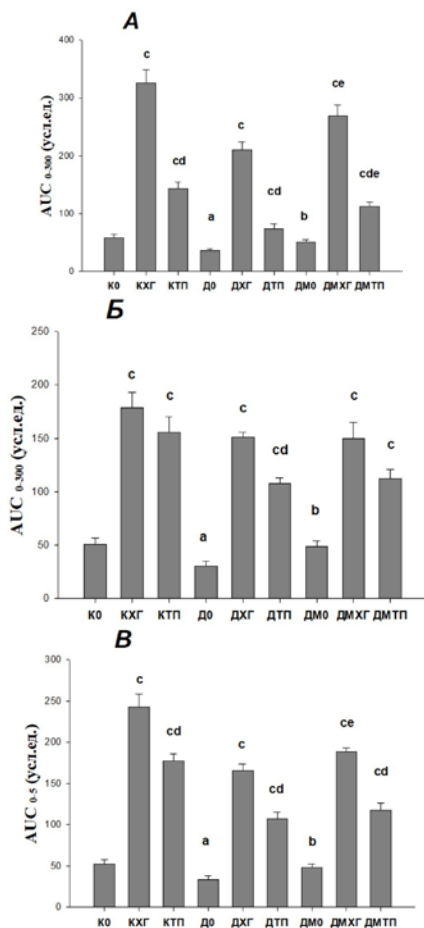


Рис. 1. Влияние пятидневной обработки контрольных и диабетических самцов крыс, а также диабетических животных с обработкой метформином на значения AUC₀₋₃₀₀ и AUC₀₋₅ для кривых «концентрация тестостерона, нМ — время, мин/дни: **А** — AUC₀₋₃₀₀ для первого дня; **Б** — AUC₀₋₃₀₀ для 5-го дня; **В** — AUC₀₋₅ для 5 дней обработки. К0 — контроль; КХГ — контроль+ХГЧ; КТП — контроль+ТП03; Д0 — диабет; ДХГ — диабет+ХГЧ; ДТП — диабет+ТП03; ДМ0 — диабет+метформин; ДМХГ — диабет+метформин+ХГЧ; ДМТП — диабет+метформин+ТП03.

^a различия между группами Д0/ДМ0 и К0 статистически значимы при $p < 0,05$; ^b различия между группами Д0 и ДМ0 статистически значимы при $p < 0,05$; ^c различия между группами без обработки (К0, Д0,

ДМ0) и группами с обработкой ХГЧ (КХГ, ДХГ, ДМХГ) и ТП03 (КТП, ДТП, ДМТП) статистически значимы при $p < 0,05$; ⁴различия между группами КТП и КХГ, ДТП и ДХГ или ДМП и ДМХГ статистически значимы при $p < 0,05$; ⁶различия между группами ДТ/ДМТ и ДГ/ДМГ статистически значимы при $p < 0,05$

Значение AUC (площадь под кривой «концентрация глюкозы, мМ — время, мин») для ГТТ в диабетической группе повышалось в сравнении с контролем (1448 ± 258 vs. 985 ± 123 усл.ед., $p < 0,05$) и снижалось при лечении метформином (1209 ± 185 усл.ед.). Таким образом, лечение диабетических крыс метформином приводило к снижению массы тела и улучшению чувствительности к глюкозе. Обработка с помощью агонистов рецептора ЛГ существенно не влияла на массу тела, уровни глюкозы и HbA1c во всех исследуемых группах крыс (данные не представлены).

Уровень тестостерона в диабетической группе был ниже, чем в контроле (7.1 ± 2.8 vs. 13.0 ± 4.3 нМ, $p < 0,05$), и частично восстанавливался при лечении метформином (10.6 ± 3.0 нМ, $p < 0,05$ по сравнению с диабетической группой). Стероидогенный ответ на введение агонистов рецептора ЛГ оценивали по значениям AUC. Для оценки интенсивности ответа в 1-й и 5-й день рассчитывали AUC_{0-300} (площадь под кривой «концентрация тестостерона, нМ — время, 0-300 мин) и в течение всех 5 дней — $AUC_{0,5}$ (площадь под кривой «концентрация тестостерона, нМ — время, 0-5 дни, учитывали значения уровня тестостерона через 180 мин после инъекции препаратов). Нами показано, что в 1-й день стероидогенный эффект ХГЧ при его введении контрольным крысам превосходит таковой ТП03 (рис. 1, А), но в дальнейшем эти эффекты становятся сопоставимыми, что демонстрируют значения AUC_{0-300} для 5-го дня и $AUC_{0,5}$ (рис. 1, Б, В). У диабетических крыс базовый уровень тестостерона снижается, а стероидогенные эффекты ХГЧ и ТП03 в 1-й день обработки ослабляются. Однако в 5-й день различия между этими эффектами у диабетических и контрольных крыс становятся менее выраженными (рис. 1, Б). При лечении метформином отмечается повышение базового уровня тестостерона и частичное восстановление стероидогенных эффектов ХГЧ и ТП03 в первый день обработки. В то же время в 5-й день усиливающий эффект метформинотерапии на стимуляцию продукции тестостерона агонистами рецептора ЛГ исчезает (рис. 1, А, Б).

Таким образом, длительное лечение крыс с СД2 с помощью метформина восстанавливает базовый уровень стероидогенеза, усиливает стимулирующий продукцию тестостерона эффект различных по механизмам действия агонистов рецептора ЛГ — ХГЧ и ТП03 при

их однократном введении, но при этом практически не влияет на этот эффект при более длительном введении препаратов. Выявленную нами временную динамику влияния метформина на стероидогенный ответ к агонистам рецептора ЛГ необходимо принимать во внимание при разработке стратегий для восстановления репродуктивных функций и повышения фертильности у мужчин с СД2.

Финансирование работы. Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 19-75-20122).

Список литературы

1. Kułaczowska Z.M., Wróbel M., Rokicka D., Gašior M., Strojek K. Metformin in patients with type 2 diabetes mellitus and heart failure: a review // *Endokrynologia Polska*. 2021. Vol. 72, №. 2. P. 163-170.

2. Shpakov A.O. Improvement Effect of Metformin on Female and Male Reproduction in Endocrine Pathologies and Its Mechanisms // *Pharmaceuticals*. 2021. Vol. 14, №. 1. P. 42.

3. Derkach K.V., Bakhtyukov A.A., Romanova I.V., Zorina I.I., Bayunova L.V., Bondareva V.M., Morina I.Yu., Kumar R.V., Shpakov A.O. The effect of metformin treatment on the basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis in male rats with type 2 diabetes mellitus // *Andrologia*. 2020. Vol. 52, №. 11. P. e13816.

4. Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Gureev M.A., Dar'in D.V., Sorokoumov V.N., Romanova I.V., Morina I.Y., Stepochkina A.M., Shpakov A.O. Comparative Study of the Steroidogenic Effects of Human Chorionic Gonadotropin and Thieno[2,3-D]pyrimidine-Based Allosteric Agonist of Luteinizing Hormone Receptor in Young Adult, Aging and Diabetic Male Rats // *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21, №. 20. P. 7493.

5. Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Dar'in D.V., Shpakov A.O. Conservation of Steroidogenic Effect of the Low-Molecular-Weight Agonist of Luteinizing Hormone Receptor in the Course of Its Long-Term Administration to Male Rats // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. Pleiades Publishing, 2019. Vol. 484, №. 1. P. 78-81.

6. Derkach K.V., Bondareva V.M., Chistyakova O.V., Berstein L.M., Shpakov A.O. The Effect of Long-Term Intranasal Serotonin Treatment on Metabolic Parameters and Hormonal Signaling in Rats with High-Fat Diet/Low-Dose Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes // *International Journal of Endocrinology*. 2015. Vol. 2015.

УДК 577.17

Фокина Е.А., Деркач К.В., Бондарева В.М., Шпаков А.О.

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии наук»

Санкт-Петербург

fokina-katrina@yandex.ru

**ВЛИЯНИЕ ЛЕЧЕНИЯ МЕТФОРМИНОМ И ИНТРАНАЗАЛЬНО
ВВОДИМЫМ ИНСУЛИНОМ НА УРОВНИ ЛЕПТИНА, ИНСУЛИНА И
ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ У КРЫС С ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

Лечение самцов крыс с сахарным диабетом 2 типа (СД2) метформинном улучшает глюкозный гомеостаз, ослабляет гиперинсулинемию и гиперлептинемию. Интраназальный инсулин (ИИ) в этом отношении менее эффективен, но при совместном применении с метформинном усиливает его эффекты. У крыс с СД2 метформин и ИИ нормализуют уровни тиреоидных гормонов, а при совместном применении активируют тиреоидную систему.

Ключевые слова: интраназальный инсулин, метформин, диабет, тиреоидные гормоны, лептин.

Fokina E.A., Derkach K.V., Bondareva V.M., Shpakov A.O.

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

**THE EFFECT OF METFORMIN AND INTRANASAL INSULIN TREATMENT
ON THE LEVELS OF LEPTIN, INSULIN AND THYROID HORMONES IN
RATS WITH TYPE 2 DIABETES**

The metformin treatment of male rats with type 2 diabetes mellitus (DM2) improves glucose homeostasis and reduces hyperinsulinemia and hyperleptinemia. Intranasal insulin (II) is less effective in this regard, but when used together with metformin, it enhances its effects. In T2DM rats, metformin and II normalize the levels of thyroid hormones, and when used together, activate the thyroid system.

Key words: intranasal insulin, metformin, diabetes, thyroid hormones, leptin.

В условиях сахарного диабета 2-го типа (СД2) развиваются инсулиновая и лептиновая резистентность, которые ассоциированы с гиперинсулинемией и гиперлептинемией. Имеются данные, что инсулин и лептин являются одними из регуляторов функций тиреоидной системы. Их действие на эту систему реализуется в основном на уровне гипоталамических нейронов, экспрессирующих

тиролиберин, релизинг-фактор тиреотропного гормона, который отвечает за стимуляцию синтеза тиреоидных гормонов тироцитами щитовидной железы [1]. В условиях СД2, несмотря на повышенные уровни инсулина и лептина в крови, их содержание в ЦНС, включая гипоталамус, в значительной степени снижено, что обусловлено нарушением транспорта этих гормонов через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [2]. Имеются основания полагать, что гипотиреоидные состояния при СД2 могут быть обусловлены не только активацией аутоиммунных процессов, но и нарушением регуляции гипоталамических и гипофизарных звеньев тиреоидной оси [1,3].

Наиболее надежным путем компенсации дефицита инсулина в ЦНС является интраназальный способ его введения, когда гормон, минуя ГЭБ, поступает непосредственно к структурам мозга [4]. Значительно сложнее компенсировать дефицит лептина в ЦНС, причиной чего является отсутствие коммерческих препаратов лептина, которые могли бы быть использованы при интраназальном его введении. В то же время известно, что сигнальные пути лептина имеют общие звенья с таковыми метформина, известного антидиабетического препарата, который широко применяется для лечения СД2 [5,6]. Так мишенью лептина и метформина является АМФ-активируемая протеинкиназа, энергетический сенсор клетки, активность которой претерпевает значительные изменения в условиях диабетической патологии, причем лептин и метформин действуют на этот фермент однонаправлено и нормализуют его активность при СД2 [2]. Соответственно, метформин может в определенной степени компенсировать дефицит лептинового сигналинга в ЦНС, в том числе посредством восстановления активности гипоталамической АМФ-активируемой протеинкиназы. Целью исследования было изучить влияние лечения крыс с СД2 с помощью метформина и интраназально вводимого инсулина (ИИ), как по отдельности, так и совместно, на уровни инсулина, лептина и тиреоидных гормонов.

Эксперименты на контрольных крысах и животных с экспериментальной моделью СД2 проводили в полном соответствии с требованиями Комитета по биоэтике ИЭФБ РАН, “European Communities Council Directive 1986” (86/609/ЕЕС) и “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”. Заболевание индуцировали комбинированной высокожировой и высокоуглеводной диетой, которая включала потребление избыточного количества насыщенных жиров (добавка 5-6 г маргарина/крысу/сутки к стандартному сухому корму) и потребление 30%-ного раствора сахарозы вместо питьевой воды. Продолжительность диеты составила 3 месяца, начиная с возраста

26 дней. Через 2,5 месяца крысам вводили низкую дозу стрептозотоцина (в/б, 15 мг/кг), что не вызывало значительного повреждения панкреатических клеток, но нарушало их ответ на повышение уровня глюкозы в крови. В результате у животных развивалась симптоматика СД2 с повышенным уровнем глюкозы, инсулина, лептина, нарушенной толерантностью к глюкозе, инсулиновой резистентностью и дислипидемией. Начиная с 15-й недели после начала диеты, крыс случайным образом распределяли на группы, после чего начинали лечить метформин (перорально через зонд, 4 недели, 100 мг/кг/сутки) (Sigma, США) или бычьим инсулином (интраназально, 0.5 МЕ/крысу/сутки, Sigma, США) как по отдельности, так и совместно. Были сформированы пять групп (в каждой по 6 крыс): контроль (К), СД2 без лечения (СД), СД2 + метформин (СДМ), СД2 + ИИ (СДИ), СД2 + метформин + ИИ, (СДМИ). Группы К и СД2 вместо препаратов получали физиологический раствор. Перед окончанием эксперимента для оценки чувствительности к глюкозе проводили глюкозотолерантный тест (ГТТ), для чего животным вводили глюкозу (2 г/кг, в/б) и оценивали уровни глюкозы и гормонов в течение 120 мин. Уровень глюкозы оценивали с помощью тест-полосок «One Touch Ultra» (США) и глюкометра «Life Scan Johnson & Johnson» (Дания), концентрацию инсулина и лептина измеряли с помощью ИФА-наборов «Rat-Insulun» («Mercodia AB», Швеция) и «ELISA for Leptin, Rat» («Cloud-Clone Corp.», США).

Лечение крыс с помощью метформина и ИИ приводило к частичному восстановлению чувствительности к глюкозе, инсулину и лептину, на что указывает ослабление базальной гипергликемии, гиперинсулинемии и гиперлептинемии и снижение уровней глюкозы, инсулина и лептина через 120 мин после глюкозной нагрузки (табл. 1). Метформин был намного эффективнее ИИ, а при совместном их воздействии его влияние на метаболические и гормональные показатели усиливалось (табл. 1). Поскольку сигнальные пути инсулина и лептина в гипоталамических нейронах характеризуются синергизмом, то усиление инсулинового сигналинга вследствие использования ИИ может приводить к активации лептинового сигналинга [6]. Мы полагаем, что сходная ситуация реализуется и в случае совместного воздействия ИИ и метформина, тем более что метформин способен активировать некоторые сигнальные пути лептина.

У крыс с СД2 была показана тенденция к снижению уровня тироксина и были достоверно снижены общий и свободный трийодтиронин (табл. 2). Лечение метформин частично восстанавлива-

ло тиреоидный статус, в то время как совместное применение метформина и ИИ вызывало дополнительную активацию тиреоидной оси, на что указывает повышение продукции тироксина и трийодтиронина (табл. 2). Лечение ИИ также оказывало на уровень тиреоидных гормонов стимулирующее влияние, но менее выраженное в сравнении с метформином. Однако для всех форм тиреоидных гормонов при лечении СД2 с помощью ИИ отмечали повышение их уровня в крови (табл. 2). Стимулирующее влияние ИИ на продукцию тиреоидных гормонов было продемонстрировано нами ранее при длительном лечении им крыс с различными по степени тяжести формами сахарного диабета 1-го типа [4]. Тот факт, что ИИ повышает уровни тиреоидных гормонов, а при совместном применении с метформином в еще большей степени усиливает его стимулирующий эффект на продукцию тиреоидных гормонов, в том числе трийодтиронина, основного эффекторного гормона тиреоидной системы, является прямым доказательством активирующего воздействия инсулина на гипоталамические и гипофизарные звенья тиреоидной оси.

Таблица 1. Масса тела и уровни глюкозы, инсулина и лептина у самцов крыс Wistar с СД2 и влияние на них лечения метформином, ИИ и метформином+ИИ

Группа крыс	Глюкоза, мМ (баз)	Глюкоза, мМ (ГТТ)	Инсулин, нг/мл (баз)	Инсулин, нг/мл (ГТТ)	Лептин, нг/мл (баз)	Лептин, нг/мл (ГТТ)
К	4,9± 0,2	5,2± 0,8	0,64± 0,13	0,90± 0,22	2,76± 0,45	3,65± 0,76
СД	6,7± 0,5	13,6± 2,5 ^a	1,22± 0,24 ^a	2,45± 0,62 ^a	3,97± 0,56 ^a	9,20± 1,24 ^a
СДМ	5,5± 0,2 ^b	8,3± 1,7 ^b	0,87± 0,18 ^b	1,29± 0,31 ^b	2,41± 0,36 ^b	4,87± 0,97 ^b
СДИ	5,9± 0,8 ^a	10,5± 1,1 ^{a,b}	0,68± 0,23 ^b	2,07± 0,68 ^a	3,11± 0,28	6,95± 0,82 ^a
СДМИ	4,7± 0,3 ^b	6,9± 1,9 ^b	0,65± 0,26 ^b	1,02± 0,46 ^b	2,19± 0,43 ^b	3,10± 0,45 ^b

Примечание. ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n=6$.

Таблица 2. Уровни тиреоидных гормонов в крови крыс с СД2 и влияние на них лечения метформинном, ИИ и метформинном+ИИ

Группа крыс	tT4, нМ	fT4, пМ	tT3, нМ	fT3, пМ
К	97±12	32±4	2,9±0,2	4,0±0,3
СД	84±7	27±3	2,4±0,2 ^a	3,2±0,3 ^a
СДМ	97±9	36±2 ^b	2,8±0,4	3,5±0,3
СДИ	103±10 ^b	34±2 ^b	2,8±0,2 ^b	3,6±0,2 ^b
СДМИ	113±7 ^b	38±3 ^b	3,1±0,4 ^b	4,4±0,5 ^b

Примечание. tT4 — общий тироксин, fT4 — свободный тироксин, tT3 — общий трийодтиронин, fT3 — свободный трийодтиронин. ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены, как $M \pm SD$, $n=6$.

Таким образом, лечение крыс с СД2 метформинном улучшает глюкозный гомеостаз, ослабляет гиперинсулинемию и гиперлептинемию. ИИ менее эффективен, но при совместном применении с метформинном усиливает его эффекты. У диабетических крыс метформин и ИИ нормализуют уровни тиреоидных гормонов, а при совместном применении даже активируют тиреоидную систему. Полученные нами данные указывают на возможные перспективы использования метформина и ИИ, в том числе при комбинированном применении для улучшения метаболических показателей и тиреоидного статуса у пациентов с СД2.

Финансирование работы. Работа поддержана средствами Минобрнауки России (соглашение № 075-1502020-916 от 16.11.2020 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития НЦМУ «Павловский центр»).

Список литературы

1. Шпаков А.О. Тиреоидная система в норме и при сахарном диабете 1-го и 2-го типов / Санкт-Петербург: Изд-во Политехнического университета. 2016. 222 с. ISBN 978-5-7422-5525-3. eLIBRARY ID: 29744259.
2. Derkach K., Zakharova I., Zorina I., Bakhtyukov A., Romanova I., Bayunova L., Shpakov A. 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 Mar 14;14(3):e0213779. doi: 10.1371/journal.pone.0213779. PMID: 30870482; PMCID: PMC6417728.
3. Kalra S., Aggarwal S., Khandelwal D. Thyroid Dysfunction and Type 2 Diabetes Mellitus: Screening Strategies and Implications for Management. *Diabetes Ther*. 2019 Dec;10(6):2035-2044. doi: 10.1007/s13300-019-00700-4. Epub 2019 Oct 3. PMID: 31583645; PMCID: PMC6848627.
4. Derkach K.V., Bogush I.V., Berstein L.M., Shpakov A.O. The Influence of Intranasal Insulin on Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis in Normal and Diabetic Rats. *Horm Metab Res*. 2015 Nov;47(12):916-24. doi: 10.1055/s-0035-1547236. Epub 2015 Mar 6. PMID: 25750079.
5. Carvalheira JB., Torsoni MA., Ueno M., Amaral ME., Araújo EP., Velloso LA., Gontijo JA., Saad MJ. Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus. *Obes Res*. 2005 Jan;13(1):48-57. doi: 10.1038/oby.2005.7. PMID: 15761162.
6. Shpakov AO., Derkach KV., Berstein LM. Brain signaling systems in the Type 2 diabetes and metabolic syndrome: promising target to treat and prevent these diseases. *Future Sci OA*. 2015 Nov 1;1(3):FSO25. doi: 10.4155/fso.15.23. PMID: 28031898; PMCID: PMC5137856.

Шкутина И.В.¹, Мироненко Н.В.²

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет» Минздрава России
Санкт-Петербург¹

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»
Воронеж²

¹*irn55@mail.ru*, ²*natashamir@yandex.ru*

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИИ А-АМИЛАЗЫ НА СОРБЕНТАХ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

Рассмотрены условия и закономерности адсорбционной иммобилизации α -амилазы на ионообменных и неионообменных носителях. Проведена сравнительная оценка сорбционной способности и каталитической активности носителей по отношению к ферменту в зависимости от концентрации белка в растворе. Выявлена возможность многократного использования иммобилизованного фермента в реакции гидролиза крахмала.

Ключевые слова: α -амилаза, иммобилизация, ионообменник, неионогенный сорбент, гетерогенный биокатализатор.

I.V. Shkutina¹, N.V. Mironenko²

St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg¹
Voronezh State University, Voronezh²

STUDY OF THE IMMOBILIZATION OF A-AMYLASE ON SORBENTS OF VARIOUS STRUCTURES IN ORDER TO CREATE DOSAGE FORMS

The conditions and regularities of the adsorption immobilization of α -amylase on ion-exchange and non-ion-exchange carriers are considered. A comparative assessment of the sorption capacity and the catalytic activity of the carriers with respect to the enzyme, depending on the concentration of hydrogen and protein ions in the solution, was carried out. The possibility of repeated use of the immobilized enzyme in the starch hydrolysis reaction was revealed.

Key words: α -amylase, immobilization, ion exchanger, nonionic sorbent, heterogeneous biocatalyst.

В настоящее время в клинической медицине достигнуты определенные успехи при лечении ферментными препаратами ряда заболеваний [1, 2]. α -Амилаза (1.4- α -D-глюкан-глюканогидролаза, гликогеназа, К.Ф. 3.2.1.1) относится к основным пищеварительным фермен-

там и гидролизует α -1,4-гликозидные связи в крахмале и гликогене с образованием мальтозы и глюкозы. α -Амилаза является одним из ферментов пищеварительного сока, который выделяется слюнными железами и поджелудочной железой. Препараты α -амилазы применяются в заместительной энзимотерапии при внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы и для коррекции функциональных изменений как у взрослых, так и у детей [3].

При создании лекарственных препаратов актуальным направлением является получение иммобилизованных форм ферментов. Иммобилизация, т.е. закрепление энзима на носителях различной структуры, способствует контролируемому высвобождению белка, позволяющему пролонгировать терапевтический эффект и сохранять каталитическую активность в течение длительного времени. Также повышается устойчивость препаратов к денатурирующим факторам по сравнению с нативным ферментом.

Целью работы является изучение условий иммобилизации α -амилазы на сорбентах различного типа.

В работе был исследован ферментный препарат α -амилаза *Aspergillus awamori* (“Диаэм”). В качестве носителей для иммобилизации α -амилазы использованы аминокарбоксильные гранульные АНКБ-2, АНКБ-50 и волокнистые К-3, АК-22-1, Х-1 ионообменники, гранульный MN-500 и волокнистый К-1 сульфокатионообменники, неионогенный сорбент Стиросорб [4, 5]. Общее количество белка в нативных ферментных препаратах определяли методом Лоури, в иммобилизованных ферментах — модифицированным методом Лоури. Количество вещества в фазе сорбента вычисляли по разности концентраций исходного и равновесного растворов.

Каталитическую активность α -амилазы измеряли фотометрическим методом. Остаточную активность образцов оценивали по отношению к $5 \cdot 10^{-4}$ М раствору крахмала. Стандартное отклонение полученных результатов не превышало величину 0,01.

При разработке метода адсорбционной иммобилизации необходимо учитывать такие факторы, как время (t) процесса иммобилизации и pH среды (табл. 1). Проведенные исследования показали, что время установления равновесия при сорбции α -амилазы на рассматриваемых сорбентах составляет 40-200 мин. Рассчитанные значения эффективных коэффициентов диффузии ($\sim 10^{-9}$ – 10^{-10} см²/с) и энергии активации при температурах 5° и 20°С (5,8–7,3 кДж) позволяют сделать предположение, что процесс адсорбции лимитируется стадией внутренней диффузии.

При изучении зависимости количества связанного с носителями фермента от различных значений pH среды было установлено, что

наиболее эффективно иммобилизация α -амилазы осуществляется при pH 4,2–5,5 в зависимости от вида сорбента.

Таблица 1. Характеристики адсорбционной иммобилизации α -амилазы на носителях различной структуры

Сорбент	t, мин	pH	Q, ммоль/г	A, Ед/мг	η , %
АНКБ-2	200	4,7	2,03	1600	64
АНКБ-50	180	4,5	1,34	1425	57
К-1	40	4,2	3,62	2025	81
К-3	120	5,5	3,75	1775	73
Х-1	60	5,0	2,72	1925	77
АК-22-1	100	4,5	3,87	2225	89
Стирсорб	45	4,7	4,18	2300	92
MN-500	60	4,7	4,05	2100	84

При температуре 20°C получены изотермы сорбции фермента при значениях pH, соответствующих максимальной сорбции α -амилазы. Выявлено, что наибольшее количество белка (Q) сорбируется на Стиросорбе (4,18 ммоль/г) и сульфокатионообменнике MN-500 (4,05 ммоль/г). Высокая удельная поверхность данных носителей ($S_{уд}=910-950 \text{ м}^2/\text{г}$, размер частиц 60-80 мкм) способствует проявлению гидрофобных взаимодействий между сорбатом и матрицей сорбента, играющих определяющую роль при иммобилизации.

Предполагается, что при связывании α -амилазы со сверхсшитыми полимерами происходит формирование π - π -электронного взаимодействия между гетероциклами гистидина, триптофана, бензольным кольцом тирозина и бензольными кольцами носителя. Аминокислоты, содержащие неполярные алифатические и ароматические боковые группы (аланин, валин, лейцин, изолейцин и фенилаланин) и входящие в макромолекулу белка, также вступают в гидрофобные взаимодействия с сорбентом. Кроме того, сорбция может осуществляться за счет ионного обмена для сорбентов, содержащих функциональные группы.

Выявлена высокая каталитическая активность полученных гетерогенных биокатализаторов, которая составляет $\eta=57-92\%$ от активности нативного фермента (см. табл. 1). Установлено, что препараты иммобилизованной α -амилазы по сравнению с нативным энзимом обладают повышенной устойчивостью к денатурирующим воздействиям температуры и pH среды. Проведенное исследование цикличности действия иммобилизованных ферментов показало, что гетерогенный биокатализатор можно использовать в среднем в течение 14 циклов (рис. 1).

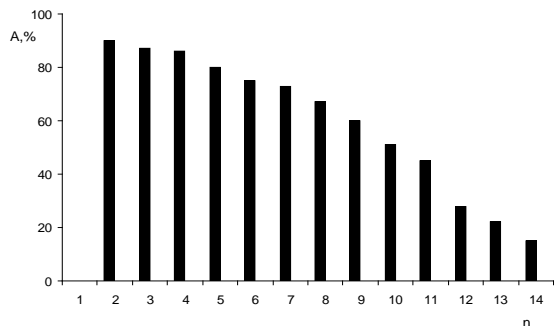


Рис. 1. Кратность использования иммобилизованной α -амилазы в реакции гидролиза крахмала: А — активность (% от максимальной); n — количество реакционных циклов

Следует отметить, что полученные иммобилизованные ферментные препараты при температуре хранения 0–2°C сохраняли каталитическую активность практически неизменной в течение 1 года.

Проведенные исследования являются одним из этапов в технологии разработки лекарственных препаратов, основу которых составляют иммобилизованные формы фермента.

Список литературы

1. Иммобилизация протеиназ с целью создания мягких лекарственных и косметических форм / Н.Д. Бунятян [и др.] // *Фундаментальные исследования*. 2015. №2-3. С.514–517.
2. Крякунова Е.В., Канарский А.В. Применение иммобилизованных микроорганизмов и ферментов // *Вестник Казанского технологического университета*. 2012. №22. С. 101–105.
3. Маев И.В., Вьючнова Е.С., Кучерявый Ю.А. Принципы заместительной ферментной терапии при экзокринной недостаточности поджелудочной железы // *Доказательная гастроэнтерология*. 2013. №1. С.68–74.
4. Особенности сорбции сапонина и α -амилазы на Стиросорбе / И.В. Шкутина, Н.В. Мироненко, О.Ф. Стоянова, В.Ф. Селеменев // *Журнал прикладной химии*. 2012. Т.85. №6. С.1017–1019.
5. Шкутина И.В., Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф. Сравнительная характеристика сорбентов для иммобилизации α -амилазы // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2018. Т.18. №2. С. 136–141.

СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

УДК 61:575

Арутюнян Л.А., Искусных А.Ю.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский
университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России

Воронеж

leva11rrr@gmail.com

БОЛЕЗНИ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА И ИХ ДИАГНОСТИКА

В настоящей статье рассматривается понятие геномного импринтинга, как феномена, механизмы возникновения мутаций в импринтируемых генах, клинические картины заболеваний геномного импринтинга, а также актуальные методы диагностики болезней геномного импринтинга.

Ключевые слова: геномный импринтинг, метилирование ДНК, диагностика.

Arutyunyan L.A., Iskusnykh A.Yu.

VSMU named after N.N. Burdenko, Voronezh

leva11rrr@gmail.com

DISEASES OF GENOMIC IMPRINTING AND THEIR DIAGNOSTICS

This article discusses the concept of genomic imprinting as a phenomenon, as well as mechanisms of mutation occurrence in imprinted genes, clinical pictures of these diseases, current methods for diagnosing genomic imprinting diseases.

Key words: genomic imprinting, DNA methylation, diagnostics.

Геномный импринтинг — процесс, при котором экспрессия гена зависит от того, на какой аллели (материнской или отцовской) он расположен. При этом наблюдается видимое искажение менделеевских правил наследования признаков. Молекулярные механизмы геномного импринтинга не до конца ясны. Аллели импринтных генов отличаются по степени метилирования ДНК, по структуре хроматина, по времени репликации. Как правило, гены, экспрессирующиеся с отцовского аллеля (около 70%), усиливают клеточный рост и дифференцировку, с материнского аллеля (остальные 30%) — тормозят эти процессы [1].

Импринтные гены расположены в геноме в виде кластеров (описано 8 кластеров, содержащих по 3-11 генов), и их экспрессия подчиняется общему регуляторному элементу [2]. Предполагают,

что количество импринтированных генов может составлять порядка 1,5% от общего числа генов человека.

Нормальная экспрессия импринтных генов имеет огромное значение для развития организма, нарушения могут привести к возникновению опухолей и тяжелых генетических заболеваний.

Наследственные болезни, синдромы, патологические состояния, обусловленные нарушением работы импринтированных генов, выделяют в отдельный класс — болезни геномного импринтинга.

Одним из таких состояний является синдром Прадера–Вилли (мутация в 15q11-13). Клиническая картина данного заболевания включает выраженную мышечную гипотонию, ожирение, акромикрию, гипогонадизм, задержку психомоторного развития и другие. С генетической точки зрения патологические механизмы данного заболевания остаются малоисследованными, однако известно, что при этой болезни наблюдается выраженный дисбаланс между процессами липолиза и синтеза жиров в подкожно-жировой клетчатке. При синдроме Ангельмана (мутация в 15q11.2-q13) заболевание проявляется в возрасте от 6 до 12 месяцев. Постепенно нарастает задержка развития, ранее освоенные навыки сохраняются, но приобретение новых происходит медленно. Выявляется тремор и хаотичные движения, особенно руками. Речевые расстройства представлены как задержками, так и полным отсутствием речи. При синдроме Беквита–Видемана (мутация в 11p) клиническая картина характеризуется омфалоцеле (пупочная грыжа), макроглоссией, расхождением прямых мышц живота, пропорциональным увеличением длины верхней и нижней конечностей — с одной стороны.

При синдроме Прадера–Вилли и синдроме Ангельмана происходит инактивация генов за счет отцовского или материнского гиперметилирования двух локусов: D15S63 (ген PW71) и D16S9 (ген ZNF127), а также инактивация промоторной области гена SNRPN. При синдроме Беквита–Видемана гиперметилирование касается импринтированных генов IGF2 и LIT1, которые моноаллельно экспрессируются (метируются) с отцовского или материнского аллелей. Все дети с признаками синдрома Беквита–Видемана должны пройти кариотипирование в лаборатории цитогенетики, так как в случае дупликации или транслокации 11p15 прогноз заболевания отличается.

Непосредственными причинами болезней импринтинга являются не только генетические нарушения (точковые, структурные и хромосомные мутации), но и функциональные нарушения, связанные с взаимодействием между импринтированными и неимпринтированными генами в критических областях хромосом.

В случае мутаций при диагностике используют молекулярно-генетические и цитогенетические методы исследования наследственного материала, при синдроме Прадера–Вилли и синдроме Ангельмана — локусы 15q11.2-q13, при синдроме Беквита-Видемана — локус 11p15.5. В случае функциональных нарушений исследуется экспрессия импринтированных генов, и ее результаты соотносятся с характером метилирования. В основе тестов для диагностики указанных выше синдромов лежит анализ аллельного метилирования критических областей хромосом.

Для определения уровня метилирования импринтированных генов успешно применяют метод пиросеквенирования. Метод MS-MLPA, на основе которого созданы специальные наборы, позволяет оценить статус метилирования сразу нескольких десятков импринтированных локусов, что сокращает время постановки диагноза. Технология секвенирования нового поколения NGS позволяет провести массовое прочтение большого числа нуклеотидных последовательностей за один рабочий цикл, что позволяет получить достаточный объем данных, позволяющих оценить статус метилирования соответствующих генов [3].

Эффективным методом диагностики болезней геномного импринтинга является флуоресцентная гибридизация (FISH тест). Метод позволяет определить расположение генетического материала в клетке вплоть до отдельных генов и обладает рядом преимуществ по сравнению с другими методами, так как позволяет проводить исследование как метафазных, так и интерфазных ядер, использовать в качестве объектов самые разные биоматериалы, в отличие от классического кариотипирования или ПЦР-теста способен выявлять микроделеции.

Таким образом, благодаря современным методам клинической лабораторной диагностики в настоящее время достигнуты определенные успехи в изучении и идентификации болезней геномного импринтинга. Однако актуальность проблемы диктует необходимость проведения дальнейших исследований в этой области.

Список литературы

1. Пендина А.А., Ефимова О.А. Болезни геномного импринтинга // Журнал акушерства и женских болезней. 2007. Т. LVI, вып. 1. С. 73-80.
2. Прохорчук Е.Б., Саложин С.В. Метилирование ДНК как один из основных эпигенетических маркеров // Биохимия. 2005. Т.70, вып. 5. С. 641-650.
3. Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Эпигенетический мозаицизм при болезнях геномного импринтинга // Генетика. 2019. Т.55, №10. С. 1137-1150.

Бакурова Е.М.

Донецкий национальный медицинский университет
имени М. Горького
Донецк
32023@mail.ru

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТИМИДИНФОСФОРИЛАЗЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Исследованы виды активности тимидинфосфорилазы (ТФ) в опухолях рака желудка и кишечника, плазме и тромбоцитах крови, оттекающей от *Locus morbi*. Установлены взаимосвязи между индивидуальными особенностями опухолевой активности ТФ, уровнями экспрессии маркеров ангиогенеза и пролиферации CD34, Ki-67, ее активностью в плазме и тромбоцитах оттекающей крови.

Ключевые слова: тимидинфосфорилаза, пролиферация, ангиогенез, опухоль, кровь, тромбоциты.

Bakurova E.M.

M. Gorky Donetsk National Medical University
Donetsk

THE PERSPECTIVES OF THYMIDINE PHOSPHORYLASE APPLICATION IN CLINICS AS AN ENZYMATIC TEST

Purpose: to evaluate the diagnostic relevance of thymidine phosphorylase (TP) in case of gastrointestinal cancers. The comparative studies of TP activity by means of spectrophotometric method were studied in solid gastrointestinal tumors, non-neoplastic tissues of resection margin and blood plasma and platelets. TP activity in patient plasma and platelets, flowing from *Locus morbi* correlated with its tumors activity. It is accompanied by the individual tumor levels of CD 34 and Ki-67 expression, so with the intensity of angiogenesis and proliferation.

Key words: thymidine phosphorylase, angiogenesis, proliferation, cancer, blood, platelets.

В настоящее время установлено, что агрессивные свойства опухоли эпителиального гистогенеза во многом обусловлены реализацией ею программы эпителиально-мезенхимального перехода или трансформации (трансдифференцировки, ЭМТ). Решающий вклад в развитие трансдифференцировки вносит строма. Было выявлено ключевое значение стромальных компонентов, например, т.н. ассоциированных с опухолью фибробластов, макрофагов, секретирующих ряд метаболитов, запускающих в опухолевом клоне реализа-

цию ЭМТ [1]. К сожалению, широкое внедрение в практику специфических иммуногистохимических маркеров трансформации весьма затруднительно по ряду причин.

Актуальным в ее верификации может быть изучение особенностей экспрессии либо ферментативной активности ряда белков, имеющих, помимо каталитической функции, свойства сигнальных молекул. Важным критерием выбора может быть их вовлеченность в программы ангиогенеза, апоптоза, пролиферации, режимы которых меняются при развитии ЭМТ. В опухолях различной локализации ранее нами был проведен ряд исследований, показавших сопряженность видов активности тимидифосфорилазы (ТФ) с особенностями экспрессии маркера пролиферативной активности клеток Ki-67 и сосудистого маркера CD34 [2–4]. В мировой практике особенности экспрессии ТФ и ее активности в опухолях изучаются на протяжении многих лет [5]. Помимо фосфорилазной активности (далее ТФк), реализующей катаболизм нуклеозида тимидина до свободного азотистого основания, в настоящее время описана, но изучена мало, ее уникальная трансферазная активность. Благодаря этой уникальной активности ТФ, наоборот, формирует субстрат, необходимый в «запасном пути» синтеза тимидилата тимидинкиназе (далее условно ТФан, учитывая ее сопряженность с формированием ключевого субстрата в синтезе ДНК, т.е. с анаболизмом).

Однако рутинные, серийные исследования в клинической практике индивидуальных свойств данного белка в гомогенатах опухоли либо в ее микросрезах — весьма трудоемкая задача. Хотя широкое внедрение в практику определения видов активности ТФ также могло бы быть полезным при индивидуальном выборе антиметаболитов фторпиримидинового ряда при химиотерапии распространенных форм эпителиального рака. Цель: данная работа посвящена поиску более доступного материала для клинических биохимических исследований.

Материалы и методы. Спектрофотометрическим методом проведено сравнительное изучение видов активности тимидинфосфорилазы в 81 случае эпителиального рака желудка (РЖ) и колоректального рака (КРР) T3-4NxM0-n стадий. В каждом индивидуальном случае особенности опухолевой ферментативной активности сопоставлялись с активностью ТФ в смежных нетрансформированных тканях края резекции, служивших контролем. Помимо тканей, материалом для исследования также служила плазма периферической венозной крови и эта же плазма (Пл/пер), но богатая тромбоцитами (Тр/пер).

В качестве контроля при этом использовали кровь 36 условно здоровых лиц того же возраста, не имевших патологии гастродуоденальной зоны воспалительного и пролиферативного характера.

В ходе оперативного вмешательства параллельно с образцами тканей получали кровь из регионарной вены, т.е. непосредственно оттекавшую от пораженного опухолью органа. Оригинальная методика по забору крови, непосредственно оттекавшей от *Locus morbi*, была разработана и внедрена в Донецком областном противоопухолевом центре доц. Ищенко Р. В. Тем самым индивидуальные особенности активности ТФ в опухоли могли быть сопоставлены нами с ее активностью в плазме венозной крови, оттекающей от органа и в ее тромбоцитах (далее, соответственно, Пл/от и Тр/от).

Фосфорилазную и трансферазную активности определяли при длине волны 300 и 267 нм по изменениям оптической плотности тимина (тимидина) в 0,01 нNaOH [4].

Результаты и их обсуждение. Согласно ранее полученным результатам [4], а также для исследуемых эпителиальных опухолей характерно повышение как фосфорилазной, так и трансферазной активностей тимидинфосфорилазы (рис. 1).

Также ранее нами была показана связь между индивидуальной активностью ТФк в опухоли и показателем ангиогенеза — экспрессией маркера эндотелия — CD34. Возможно, это связано с ангиогенными эффектами продуктов реакции — тимина и 2-дезоксидрибозы [6].

Помимо того, что усиленный ангиогенез — специфический признак ЭМТ, наличие CD34 непосредственно может свидетельствовать о реализации опухолью программ трансдифференцировки, так как экспрессировать этот маркер способны и прогениторные стволовые клетки, эмбриональные фибробласты [7]. Следовательно, высокая активность ТФ сопряжена с формированием агрессивных черт опухоли [5].

Согласно рис.1, а также результатам однофакторного дисперсионного анализа ANOVA особенностей активности ферментов в генеральной, общей выборке опухолей по сравнению с контролем, их центральными тенденциями являются повышение активности ТФк, ТФан в эпителиальных опухолях желудка, кишечника. Трансферазная активность (ТФан) сопоставима с фосфорилазной (ТФк), а значит может оказывать значимый эффект на клеточный метаболизм и характеристики конкретной опухоли. Так ранее нами было установлено, что между уровнями ядерной экспрессии Ki-67 и индивидуальными особенностями тканевой трансферазной активности ТФан имеется прямая сильная связь [3, 4].

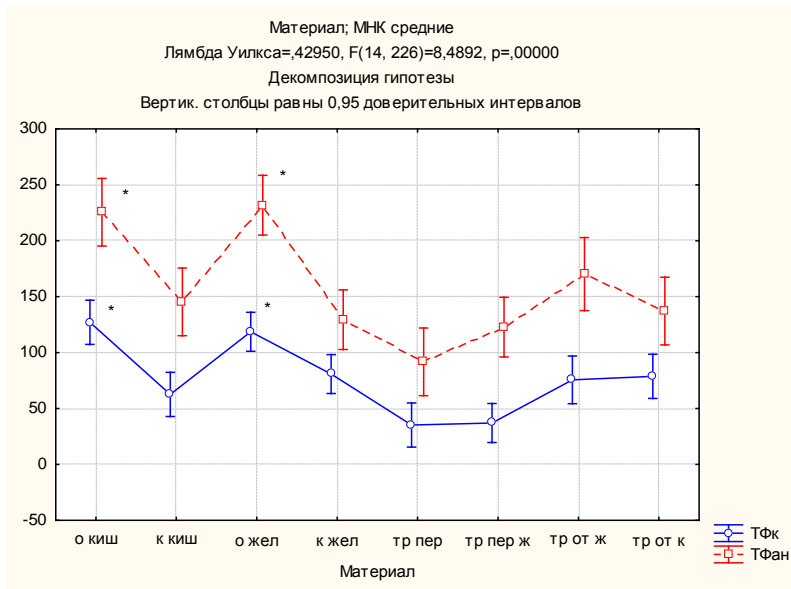


Рис. 1. Дисперсионный однофакторный анализ ANOVA особенностей активности ТФ при РЖ и КРР в зависимости от материала исследования, нмоль/мин·мг.

Примечание: о киш — опухоли КРР, о жел — опухоли РЖ; к киш, к жел — контроль; тр пер — Тр/пер при КРР, тр пер ж — Тр/пер при РЖ, тр от ж и тр от к соответственно, Тр/от при РЖ и при КРР, в оттекающей от пораженного органа венозной крови.

Установлено, что особенности активности ТФ в тромбоцитах венозной крови, непосредственно оттекающей от пораженного органа, подобны таковым в опухоли (отсутствуют статистические достоверные отличия между активностью как для ТФан, так и для ТФк в этом материале и в опухоли) (рис. 1). В то же время в тромбоцитах периферической крови активность ТФ была ниже, чем в опухоли (как при РЖ, так и при КРР).

Далее был выполнен однофакторный анализ по определению однородности полученных выборок по активностям ТФк, ТФан в опухолях желудка и кишечника. Согласно анализу ANOVA выборка видов опухолевой активности ТФ была неоднородной. Результаты согласуются с установленной ранее метаболической неоднородностью опухолей одного гистологического типа [2, 4] и корреляциями активности ТФ с индивидуальными уровнями экспрессии

указанных маркеров (CD34 и Ki-67). По результатам ANOVA в опухолях выделены несколько подгрупп. В одной из них активность ТФк была достоверно выше контроля ($p=0,001$). При этом в ней на фоне повышения фосфоорилазной активности, трансферазная активность в этих же опухолях не отличалась достоверно от контроля. Однако большинство исследованных случаев РЖ и КРР характеризует либо высокая трансферазная активность (в них ТФк не отличалась достоверно от контроля), либо сочетанная высокая как трансферазная, так и фосфоорилазная активность тимидинфосфоорилазы (89% исследованных случаев РЖ и 76% опухолей КРР). Следовательно, для эпителиального рака желудка и кишечника характерно нарастание трансферазной активности ТФ, что может быть связано с интенсивностью их пролиферации.

Параллельно исследовали особенности активностей ТФк и ТФан в периферической крови. По результатам корреляционного анализа в норме между возрастом и особенностями активности ТФк плазмы установлена прямая связь (коэффициент парной корреляции Кендалла 0,60; $p<0,05$).

Как для РЖ, так и КРР для ТФк характерно снижение активности в плазме во всех возрастных группах.

Активность в плазме, богатой тромбоцитами, как ТФк, так и ТФан была выше, чем в самой плазме периферической венозной крови. Можно предположить, что такая разница показателей активности формируется непосредственно за счет активности самих циркулирующих тромбоцитов. Примечательно, что ангиогенные свойства впервые были установлены для ТФ, выделенной из тромбоцитов. В англоязычной литературе ее описывают именно как фактор роста эндотелиальных клеток тромбоцитарного происхождения (platelet-derived endothelial cell growth factor). Отметим, что при патологии достоверных изменений активности ТФ в плазме, богатой тромбоцитами не установлено.

Подобные тенденции интересно проследить и по особенностям активности ТФ (табл. 1) в плазме, оттекающей от органа. Проследим их с учетом тканевой активности в опухолях на примере подгрупп 1 и 2 для опухолей КРР, сформированных на основе индивидуальных особенностей видов активности ТФ ранее по результатам ANOVA.

Таблица 1. Активность ТФ в тканях рака кишечника и плазме периферической венозной крови, плазме крови, оттекающей от кишечника, нмоль/мин·мг

	Ткани		Плазма	
	Контроль	КРР	Оттекающая	Периферическая
Подгруппа 1				
ТФк	55,89± 14,71	71,67± 17,55	5,84± 1,25	6,86± 1,66
ТФан	108,40± 15,23	199,46± 13,03*	67,55± 11,70**	34,93± 14,82
Подгруппа 2				
ТФк	68,67± 13,67	213,88± 35,45**	18,60± 4,56 *	11,03± 2,49
ТФан	100,00± 13,38	78,25± 8,61	40,40± 10,69	27,53± 8,28

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Согласно данным таблицы, виды активности ТФ в оттекающей от кишечника плазме отражают особенности их опухолевой активности. Так, в подгруппе 1, где опухоль характеризовалась преобладанием ТФан активности, а ТФк достоверно не отличалась от контроля, активность ТФан в оттекающей плазме выше, чем в подгруппе 2, где для опухоли индивидуальной особенностью было преобладание ТФк активности. В оттекающей плазме этой подгруппы ТФк также превышала активность в подгруппе 1.

Следовательно, при изучении особенностей активности ТФ установили, что наиболее информативным материалом, чья активность ферментов отражала бы особенности опухолевой активности, являются плазма крови, оттекающая от пораженного органа и она же, богатая тромбоцитами. Однако, следует отметить, что этот материал, из-за сложностей его получения, может быть использован в ограниченном числе случаев, практически исключительно интраоперационно. В то же время для фермента периферического кровотока, а именно плазмы периферической венозной крови, установлены и подтверждены согласно полученным ранее данным результаты о достоверных изменениях активности по сравнению с контролем. Следовательно, этот материал ввиду доступности может быть использован при индивидуальном мониторинге пациентов.

Список литературы

1. Особенности эпителиально-мезенхимальной трансформации в раках различной локализации и гистологического строения / И.В. Василенко, Р.Б. Кондратюк, А.Г. Кудряшов и др. // Клиническая онкология. 2012. №5 (1). С. 163–167.
2. Перспективы использования ферментативного теста при гастроинтестинальном раке и раке легких / Е.М. Бакурова, Р.В. Бузина, И.В. Василенко, Б.Г. Борзенко // Профилактическая и клиническая медицина. 2015. № 3 (56). С. 98–101.
3. Опухолевое микроокружение в основных гистологических типах рака желудка / И.В. Василенко, Р.Б. Кондратюк, Е.М. Бакурова, Р.В. Бузина // Клиническая и экспериментальная морфология. 2015. № 4 (16). С. 9–14.
4. Бакурова Е. М. Взаимосвязь активности тимидинфосфорилазы с индивидуальными особенностями пролиферации и ангиогенеза опухолей основных локализаций // Новообразование. 2017. № 1 (16). С. 69–72.
5. Thymidine Catabolism as a Metabolic Strategy for Cancer Survival /S. Tabata, M. Yamamoto, H. Goto, A. Hirayama. et al. // Cell Reports. 2017. Vol. 19., №7. P. 1313–1321. DOI: 10.1089/ars.2016.6869
6. Direct Activation of NADPH Oxidase 2 by 2-Deoxyribose-1-Phosphate Triggers Nuclear Factor Kappa B-Dependent Angiogenesis/ D. Vara, J. M. Watt, T. M. Fortunato et al.// Antioxid Redox Signal. 2018. Vol.28(2). P. 110-130. DOI: 10.1089/ars.2016.6869.
7. Cancer-associated fibroblast-targeting strategy enhances antitumor immune response in dendritic cell-based vaccine/ Y. Ohshio, K. Teramoto, J. Hanaoka, N. Tozuka // Cancer Sci. 2015. Vol. 106(2). P. 134–142.

УДК 612.015.6

Гайковая Л.Б., Евтеева Д.А., Вохмянина Н.В.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

Larisa.Gaikovaya@szgmu.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

В связи с появлением данных в литературе о связи дефицита фолиевой кислоты в крови и развитием осложнений новой коронавирусной инфекции было проведено исследование уровня фолиевой кислоты у пациентов с COVID-19 при поступлении в стационар и выписке. Установлено, что у пациентов, перенесших COVID-19, значительно снижалась концентрация фолиевой кислоты при выписке из стационара.

Ключевые слова: фолиевая кислота, новая коронавирусная инфекция.

Gaikovaya L.B., Evteeva D.A., Vokhmyanina N.V.

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

DETERMINATION OF FOLIC ACID IN BLOOD IN PATIENTS WITH NEW CORONAVIRAL INFECTION

In connection with the emergence of data in the literature on the relationship between the deficiency of folic acid in the blood and the development of complications of the new coronavirus infection, a study of the level of folic acid in patients with COVID-19 was carried out upon admission to the hospital and discharge. It was found that in patients who underwent COVID-19, the concentration of folic acid significantly decreased upon discharge from the hospital.

Key words: folic acid, COVID-19.

Актуальность. В настоящее время инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, приобрела масштабы мировой пандемии. Общее число заболевших в мире приравнивается к 227 124 559, летальные исходы составляют 7% среди заболевших [5]. Клиническая картина COVID-19 разнообразна и характеризуется от бессимптомных форм до критических состояний и смерти [6]. До сих пор COVID-19 остается недостаточно изученным заболеванием и в последнее время стало уделяться большое внимание нарушениям в процессах метилирования, в частности в метаболизме фолатов, принимающих

участие в репликации вируса, и в возможном формировании тяжелых осложнений [4].

Цель. Определить концентрацию фолиевой кислоты у пациентов с новой коронавирусной инфекцией при поступлении на стационарное лечение и перед выпиской.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 10 пациентов с COVID-19 со средним и тяжелым течением, находившихся на стационарном лечении в COVID-центре ФГБОУ СЗГМУ имени И.И. Мечникова. Средний возраст пациентов составлял 47 ± 9 лет. Забор крови у пациентов осуществлялся с соблюдением правил преаналитического этапа двухкратно, в день поступления в стационар и через 10-14 дней. Концентрацию фолиевой кислоты определяли электрохемилюминисцентным методом на анализаторе Cobas e 411 (Roche, Швейцария). Полученные результаты сравнивали с референтными значениями, представленными в инструкции к набору реагентов фирмы-производителя, что составляет 4,6-34,8 нг/мл, медиана 13,0 нг/мл для обоих полов. Взятие крови проводили путем пункции кубитальной вены после наложения жгута (не более 1 мин) в положении обследуемого сидя с помощью двухкомпонентных систем для забора крови в одноразовые полипропиленовые пробирки типа Vacuette с активатором свертывания.

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы Jamovi. Числовые значения представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей (Me [Q1–Q3]). Для сравнения двух связанных переменных использовали критерий Вилкоксона, для независимых переменных — критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. При поступлении в стационар у пациентов с COVID-19 было выявлено статистически значимое снижение концентрации фолиевой кислоты (6,37 нг/мл [4,21;9,22]) по сравнению референтными значениями (13,0 нг/мл [9,5;14,4]), $p = 0,009$ (табл. 1).

Таблица 1. Содержание фолиевой кислоты в крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией при поступлении Me [Q1–Q3]

Лабораторный показатель	Исследуемая группа	Референтный интервал	P
Фолиевая кислота, нг/мл	6,37 [4,21;9,22]	13,0 [9,5;14,4]	0,009

Перед выпиской у пациентов с COVID-19 концентрация фолиевой кислоты была достоверно ниже (1,98 нг/мл [1,64;3,35]) по сравнению со значениями при поступлении (6,37 нг/мл [4,21;9,22]), $p=0,02$ (табл. 2) и референтными интервалами.

Таблица 2. Содержание фолиевой кислоты в крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией в динамике Me [Q1–Q3]

Лабораторный показатель	Исследуемая группа (при поступлении)	Исследуемая группа (через 10-14 дней)	p
Фолиевая кислота, нг/мл	6,37 [4,21;9,22]	1,98 [1,64;3,35]	0,02

Обсуждение. Проведенное нами пилотное исследование, показало, что у пациентов со среднетяжелым течением новой коронавирусной инфекцией наблюдалось снижение концентрации фолиевой кислоты в крови уже при поступлении в стационар по сравнению с референтным интервалом. После терапии дефицит фолиевой кислоты усиливался, что подтверждалось статистически значимым снижением концентрации фолиевой кислоты через 10-14 дней. Наличие в достаточном количестве фолиевой кислоты в сыворотке человека имеет значение в метаболизме гомоцистеина [2].

Дефицит фолиевой кислоты приводит к гипергомоцистеинемии, которая является фактором риска развития атеросклероза и сердечно-сосудистых осложнений [3]. По данным А.Н. Бойко и соавторов (2020) добавление к базовой терапии препарата, содержащего фолиевую кислоту, способствовало уменьшению периода лихорадки, а также более ранней выписке из стационара с улучшением, значимо и быстрее нормализовались уровни СРБ, D-димера и гомоцистеина [1].

Вывод. У пациентов со среднетяжелой формой течения COVID-19 установлен дефицит фолиевой кислоты, который усугублялся перед выпиской пациента из стационара.

Заключение. Несмотря на небольшое количество наблюдений был установлен дефицит фолиевой кислоты в крови у пациентов с COVID-19, который необходимо исследовать в дальнейшем для оценки риска заболеванием COVID-19 и развития неврологических и сердечно-сосудистых осложнений.

Определение концентрации в крови фолиевой кислоты и других витаминов, которые регулируют процессы метилирования в организме, может быть использовано как прогностический маркер неблагоприятных событий у пациентов новой коронавирусной инфекцией.

Таким образом, необходимо проводить дальнейшие исследования по изучению нарушений фолатного цикла у пациентов с COVID-19, приводящие к гипергомоцистеинемии и развитию ряда патологических процессов.

Список литературы

1. Бойко А.Н, Шамалов Н.А, Бойко О.В. и др. Первый опыт использования препарата Ангиовит в комплексном лечении острой стадии инфекции COVID-19 // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2020; 12(3):82-86. DOI: 10.14412/2074-2711-2020-3-82-86.
2. Bolander-Gouaille C. Focus on Homocysteine and the Vitamins involved in its metabolism. Springer Verlag France; 2002. 217 p.
3. Boushey C.J., Beresford S.A., Omenn G.S., Motulsky A.G. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes // JAMA. 1995 Oct 4;274(13):1049-57.doi:10.1001/jama.1995.03530130055028.
4. McCaddon A., Regland B. COVID-19: A methyl-group assault? // Medical Hypotheses 149 (2021) 110543
5. World Health Organization (WHO). Coronavirus disease (COVID2019) situation reports.
6. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention // JAMA. 2020;323(13):1239-1242.

УДК 616.517.8

*Гайковая Л.Б.¹, Шеламова Д.А.¹, Гулордава М.Д.²,
Аликбаев Т.З.¹, Ермаков А.И.³*

¹ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

²НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

³СПб ГБУЗ «Центр СПИД и инфекционных заболеваний»

Санкт-Петербург

Larisa.Gaikovaya@szgmu.ru

МИКРОЧАСТИЦЫ КЛЕТОК КРОВИ КАК ПРЕДИКТОР АКТИВАЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ ПСОРИАЗА

С целью изучения сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у пациентов с тяжелой формой псориаза было обследовано 15 пациентов и 14 человек контрольной группы. Установлено, что у пациентов с тяжелой формой псориаза количество микрочастиц клеток крови выше, чем в контрольной группе.

Ключевые слова: псориаз, тромбоцитарные микровезикулы, экзосомы.

*Gaikovaya L.B.¹, Shelamova D.A.¹, Gulordava M.D.²,
Alikbayev T. Z.¹, Ermakov A.I.³*

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
St. Petersburg

²Kashkin Research Institute of Medical Mycology
of the North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov

St. Petersburg

³Saint Petersburg State Medical Institution
"Center for AIDS and Infectious Diseases", St. Petersburg

MICROPARTICLES OF BLOOD CELLS AS A PREDICTOR OF ACTIVATION OF THE HEMOSTASIS SYSTEM IN PATIENTS WITH SEVERE PSORIASIS

In order to study vascular-platelet hemostasis in patients with severe psoriasis, 15 patients and 14 people of the control group were examined. It was found that in patients with severe psoriasis, the number of micro-particles of blood cells is higher than in the control group.

Key words: psoriasis, platelet microvesicles, exosomes.

Актуальность. Псориаз — хронический, иммуноопосредованный, генетически детерминированный дерматоз мультифакториальной природы, характеризующийся нарушением кератинизации и гиперпролиферацией эпидермальных клеток [1, 3]. Распространенность псориаза в популяции составляет от 1 до 5% и зависит от климатогеографического региона проживания и этнических особенностей населения [3]. В последние годы отмечается увеличение числа тяжелых, атипичных, резистентных к проводимой терапии форм заболевания. При псориазе у пациентов значительно ухудшается качество его жизни, снижается социальная активность, работоспособность, что может приводить к инвалидизации [4]. На сегодняшний день описано большое многообразие факторов, оказывающих влияние на его развитие и появление обострений, при этом кожная манифестация представляет собой итог длительного воспалительного процесса, сопровождающегося развитием сложных метаболических и патоиммунных механизмов [6]. По данным ряда авторов у больных псориазом чаще, чем в общей популяции формируется эндотелиальная дисфункция со склонностью к тромбообразованию [11]. Поврежденный эндотелий активизирует сосудистотромбоцитарное звено гемостаза, что подтверждается изменениями реологических свойств крови, склонностью к тромбообразованию и стимуляцией процессов свертывания крови [6, 11].

В последние годы активно изучается роль микровезикул в регуляции ангиогенеза и в воспалительных реакциях. Многие исследователи отмечают присущую тромбоцитарным микрочастицам проагрегантную и прокоагулянтную активность [10, 12, 13]. Показано, что тромбоцитарные микрочастицы воздействуют на эндотелий сосудов, вызывая в нем изменения путем передачи эндотелиоцитам арахидоновой кислоты, и усиливают адгезию тромбоцитов благодаря наличию в их составе коллаген-связывающих рецепторных белков [13].

Цель исследования: определение количества внеклеточных микрочастиц тромбоцитов и лейкоцитов у больных с тяжелой формой псориаза.

Материалы и методы: в исследование было включено 15 пациентов с вульгарным и экссудативным псориазом в прогрессирующей стадии (6 женщин и 9 мужчин) с тяжелым течением (значение индекса тяжести поражения (PASI — более 30)), находившихся на стационарном лечении в СПб ГБУЗ «Городской кожно-венерологический диспансер» и НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Средний возраст пациентов составил 48 ± 15 лет. Контрольная группа вклю-

чала 14 добровольцев без заболеваний кожи, и была сопоставима по полу и возрасту с группой пациентов. Все обследованные дали информированное согласие на участие в исследовании. Забор крови у пациентов осуществлялся однократно, в день поступления в дерматологический стационар с соблюдением правил преаналитического этапа.

У всех обследованных в крови измерено количество внеклеточных микровезикул (CD9), — экзосом на проточном цитометре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США) с помощью набора реагентов Eхо-FACS (HansaBioMed Life Sciences, Эстония) и флуоресцентно меченых антител к поверхностным маркерам клеток CD41 (тромбоциты), CD45 (лейкоциты), (Beckman Coulter, США).

Для анализа микрочастиц проводили отбор проб крови путем пункции кубитальной вены после наложения жгута (не более 1 мин) в положении обследуемого сидя с помощью двухкомпонентных систем для забора крови в одноразовые полипропиленовые пробирки типа Vacuette. В качестве антикоагулянта пробирка содержала ЭДТА-К2. Образцы центрифугировали для получения безтромбоцитной плазмы при 3500 g в течение 15 мин при комнатной температуре. Далее 1 мл безтромбоцитной плазмы обрабатывали набором реагентов Eхо-FACS (HansaBioMed Life Sciences, Эстония) согласно прилагаемой инструкции. Данный набор позволяет выделить из плазмы крови внеклеточные микрочастицы с последующим их осаждением на латексных «микробусинах», которые удерживают на своей поверхности только экзосомы (размером до 100 нм), что дает возможность использовать метод проточной цитометрии для обнаружения малых частиц. В качестве маркера экзосом использовали антитела к CD9, меченные флуоресцентным красителем Alexa Fluor 488. Для идентификации клеточной принадлежности анализируемых микрочастиц образцы после обработки реагентами Eхо-FACS и инкубации с анти-CD9-Alexa Fluor 488 окрашивали флуоресцентно мечеными антителами к поверхностным маркерам тромбоцитов — CD41-PE, лейкоцитов — CD45-PE по стандартной методике. К 100 мкл латексных бусин с экзосомами, ресуспендированных в буферном растворе, из набора Eхо-FACS добавляли соответствующее антитело в разведении 1:200 для CD9 и 1:20 для антител производства Beckman Coulter и инкубировали в темноте в течение 60 мин при 4 °С. Далее добавляли 4 мл промывочного буфера из набора Eхо-FACS, центрифугировали 5 мин при 3500 g, удаляли супернатант, а осадок ресуспендировали в 500 мкл буфера и анализировали с помощью проточного цитометра. Результат учитывали в процентах позитивных событий [5].

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программного пакета Statistica 10 for Windows (StatSoft Inc., США). Числовые значения представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей (Me [Q1–Q3]). Для сравнения двух независимых переменных использовали тест Манна–Уитни. Корреляции между показателями определяли по Спирмену. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

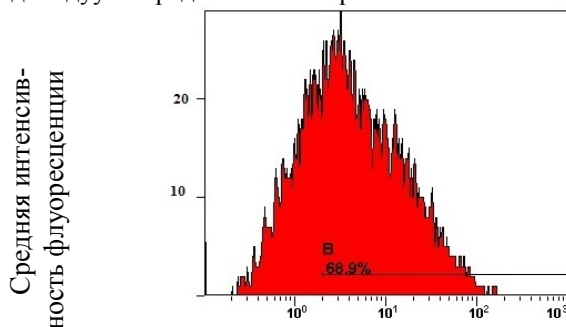
Результаты исследования. При сравнительном анализе полученных данных было выявлено статистически значимое повышение количества внеклеточных микрочастиц — экзосом (CD9, %) у пациентов с тяжелой формой псориаза (77,4% [65,1–85,7]) по сравнению с контрольной группой (52,8% [42,7–72,7]), $p = 0,029$ (табл. 1).

При анализе микрочастиц по клеточной принадлежности установлено, что у пациентов с псориазом преобладали микрочастицы тромбоцитарного происхождения (CD41) (37,3% [28,0–51,5]) по сравнению с контрольной группой (10,1% [7,8–20,9]), $p < 0,001$ (таблица №2). Микрочастицы лейкоцитарного происхождения (CD45) у пациентов с псориазом были достоверно ниже (0,3% [0,3–1,6]), чем в контрольной группе (1,4% [1,1–2,9]), $p = 0,006$.

Таблица 1. Количество микрочастиц различного клеточного происхождения у пациентов с псориазом и контрольной группы

Клеточный маркер	Пациенты с псориазом Me(C25–C75)	Контрольная группа Me(C25–C75)	p
C9+ (% событий) Экзосомы	77,4 [65,1–85,7]	52,85 [42,7–72,7]	0,029

Характерные цитограммы пациента А. с псориазом и здорового индивидуума представлены на рис. 1.



Количество событий, позитивных по CD9

a

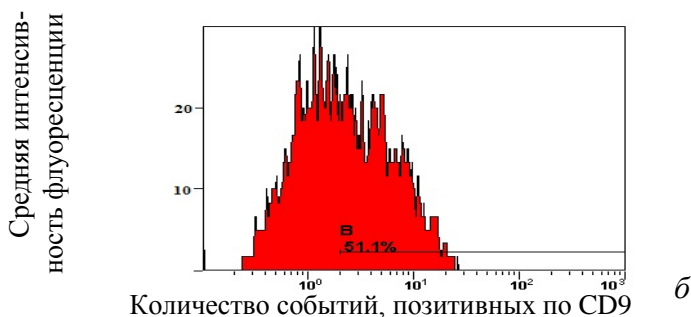


Рис. 1. Цитограммы пациента А. с псориазом (а) — 68,9% позитивных событий и здорового индивидуума (б) — 51,1% позитивных событий

Таблица 2. Количество микрочастиц различного клеточного происхождения у пациентов с псориазом и лиц контрольной группы

Клеточный маркер	Пациенты с псориазом Me (C25–C75)	Контрольная группа Me (C25–C75)	р
CD41+ (% событий) Тромбоцитарные микровезикулы	37,3 [28,0–51,5]	10,1 [7,8–20,9]	<0,001
CD45+ (% событий) Лейкоцитарные микровезикулы	0,3 [0,3–1,6]	1,4 [1,1–2,9]	0,006

Обсуждение. Проведенное нами исследование показало, что у пациентов с псориазом количество микрочастиц достоверно выше, в основном за счет микрочастиц тромбоцитарного происхождения. Значительное увеличение количества микрочастиц тромбоцитарного происхождения свидетельствует об активации системы свертывания крови, и может быть предиктором неблагоприятных тромбоцитарных событий при псориазе. Полученные данные согласуются с рядом авторов [10, 12]. При тяжелой форме псориаза активируется система гемостаза, которая оказывает повреждающее воздействие на эндотелий сосудов, в связи с чем, возможно, происходит активное отделение микрочастиц — мембранных везикул и экзосом — от клеток крови. В то же время количество лейкоцитарных микрочастиц у пациентов с псориазом достоверно ниже, чем в контрольной группе, что, возможно, связано с повышением интенсивности миграции лейкоцитов из кровеносного русла в ткань. В пользу уве-

личения миграционной активности лимфоцитов может указывать тот факт, что хронический воспалительный процесс сопровождается лимфопролиферацией, и псориаз в этом смысле не исключение [9]. Однако в исследованиях Т.З. Аликбаева (2021) установлена активация клеточного иммунного ответа у больных с тяжелой формой псориаза с ведущей ролью цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов и НКТ-клеток [2], из чего следует необходимость продолжения исследования связи лейкоцитарных микрочастиц и активации клеточного иммунитета.

Анализ публикаций, посвященных оценке внеклеточных везикул при псориазе, показал наличие единичных публикаций, одна из которых посвящена в целом активации процессов везикуляции при дегенеративных и воспалительных системных заболеваниях, другая — возможности клинического использования мезенхимальных стволовых клеток и секретируемых ими компонентов, включая микрочастицы, в терапии псориаза [7, 8].

Таким образом, анализ количества микрочастиц клеток крови, является новым подходом в поиске лабораторных маркеров для оценки активации системы гемостаза у пациентов с тяжелой формой псориаза.

Вывод. Определение количества внеклеточных микрочастиц — экзосом в целом, и тромбоцитарных микрочастиц, в том числе, у больных с тяжелой формой псориаза может быть использовано как маркер активации системы гемостаза и повышенного риска тромботических осложнений.

Список литературы

1. Адаскевич В.П. Диагностические индексы в дерматологии. М.: Изд-во Панфилова: Бином, 2014. 352 с
2. Аликбаев Т.З. Оценка показателей иммунного статуса больных среднетяжелых и тяжелых форм псориаза в сборнике: трансляционная медицина: от теории к практике. Сборник научных трудов 9-й всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов, молодых ученых и специалистов. 2021. С. 15.
3. Кубанова А.А. Клинические рекомендации. Дерматовенерология. 4-е изд., перераб. и доп. М.: ДЭКС-Пресс, 2010. 428 с.
4. Кунгуров Н.В. Генетические факторы этиологии и патогенеза псориаза / Н.В. Кунгуров, Н.Н. Филимонкова, В.И. Голубцов, С.А. Корхмазова // Вестник дерматологии и венерологии. 2011. №1. С.23-27.
5. Сироткина О.В., Ермаков А.И., Гайковая Л.Б., Кудлай Д.А., Вавилова Т.В. Микрочастицы клеток крови у больных Covid-19 как

маркер активации системы гемостаза // Тромбоз, гемостаз и реология. 2020. № 4. С. 35-40.

6. Dowlatshahi E.A. Markers of systemic inflammation in psoriasis: a systematic review and meta-analysis / E.A. Dowlatshahi, E.A.M van der Voort, L.R. Arends, T. Nijsten // *British Journal of Dermatology*. 2013. Vol. 169. P. 266–282.

7. Evelyn K., Judit D, Anikó G. Exosomal long non-coding RNA as biomarkers in human diseases. *eJIFCC2019Vol30No2pp224-236*.

8. Francisco J, Noemi E. et al Mesenchymal Stem Cells in Homeostasis and Systemic Diseases: Hypothesis, Evidences, and Therapeutic Opportunities. Received: 10 July 2019; Accepted: 29 July 2019; Published: 31 July 2019.

9. Gudjonsson J. E., Jonhson A., Sigmundsdottir H. Immunopathogenic mechanisms in psoriasis // *Clin. Exp. Immunol*. 2004. Vol. 135 (1). P. 1-8.

10. Lipets E., Vlasova O., Urnova E. et al. Circulating contact-pathway-activating microparticles together with factors IXa and Xia induce spontaneous clotting in plasma of hematology and cardiologic patients. *PLoS One* 2014;9: e87692. DOI: 10.1371/journal.pone.0087692. PMID: 24498168.

11. Ogdie A. Risk of venous thromboembolism in patients with psoriatic arthritis, psoriasis and rheumatoid arthritis: a general population-based cohort study // A. Ogdie, N.K. McGill, D. B. Shin, J. Takeshita, T.J. Love et al. // *European Heart Journal*. 2018. Vol. 39, — P. 3608–3614.

12. Sinauridze E.I., Kireev D.A., Popenko N.Y. et al. Platelet microparticle membranes have 50– to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost* 2007;97:425–34. doi: 10.1160/TH06-06-0313. PMID: 17334510

13. Zakharova N.V., Artemenko E.O., Podoplelova N.A. et al. Platelet surface-associated activation and secretion-mediated inhibition of coagulation factor XII. *PLoS One* 2015;10: e0116665. doi: 10.1371/journal.pone.0116665. PMID: 25688860.

УДК 616.697-02:616.69-008.8-076

Галькович К.Р., Соснин Д.Ю., Кривцов А.В.

АНО ДПО «Пермский институт повышения квалификации
работников здравоохранения»

Пермь

kr20211@yandex.ru

ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ СЕМЕННОЙ ПЛАЗМЫ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ИНФЕРТИЛЬНОСТИ МУЖЧИНЫ

Исследованы эритропоэтин (ЭПО, англ. EPO) и белок, связывающий жирные кислоты (БСЖК, англ. FABP) в эякуляте. Концентрация FABP в семенной плазме пациентов с олигоастенозооспермией выше в сравнении с образцами фертильного эякулята ($p < 0,05$). Содержание EPO в семенной плазме больных олигоастенозооспермией статистически значимо не отличается от уровня у здоровых мужчин.

Ключевые слова: эритропоэтин; EPO; белок, связывающий жирные кислоты; FABP; семенная плазма, эякулят, мужское бесплодие.

Gal'kovich K. R., Sosnin D. Yu., Krivtsov A. V.

Perm Institute of Medical Workers Advanced Training
Perm

THE IMPORTANCE OF SOME COMPONENTS OF SEMINAL PLASMA IN DETERMINING MALE FERTILITY

Erythropoietin (EPO) and fatty acid binding protein (FABP) in the ejaculate were studied. The concentration of FABP in the seminal plasma of patients with oligoastenozoospermia is higher in comparison with the samples of fertile ejaculate ($p < 0,05$). The EPO content in the seminal plasma of patients with oligoastenozoospermia does not significantly differ from the level in healthy men.

Key words: erythropoietin; EPO; fatty acid binding protein; FABP; seminal plasma, ejaculate, male infertility.

Нарушение мужской фертильности в структуре бесплодия семейных пар составляет около 40% [6]. Выявлена взаимосвязь компонентов семенной плазмы с концентрацией, подвижностью и морфологическими особенностями сперматозоидов [4, 5, 8, 9]. С этих позиций дальнейшее изучение протеома эякулята представляет интерес для раннего выявления бесплодия у мужчин и заболеваний органов мужской репродуктивной системы.

Цель исследования. Изучить закономерности изменения концентрации эритропоэтина (ЭПО, англ. EPO) [1] и белка, связываю-

щего жирные кислоты (БСЖК, *англ.* FABP) [7] в эякуляте здоровых и мужчин со сниженной фертильностью.

Материалы и методы. В исследование включены мужчины ($n=52$) от 21 до 47 лет (средний возраст 31,4 года). Обследование проводилось с целью уточнения причины бесплодного брака. У всех участников исследования отсутствовали изменения в общем и биохимическом анализах крови, общем анализе мочи. Исследование выполнено с соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов, изложенных в Хельсинской декларации Всемирной организации здравоохранения.

Образцы эякулята были собраны после 2-4 дней полового покоя. Оценка и характеристика собранных образцов осуществлялась в соответствии с рекомендациями ВОЗ [3]. Для подсчета концентрации и общего количества сперматозоидов, а также оценки их подвижности использовали анализатор качества спермы SQA-V («MES», Израиль). При низкой концентрации сперматозоидов (менее 1 млн/мл) дополнительно выполняли микроскопическую оценку их содержания в камере Горяева.

Семенную плазму отделяли путем центрифугирования при 2000 g (3000 об/мин) в течение 15—20 мин на центрифуге CM-6M («ELMI», Латвия). Аликвоты супернатантов биологического материала переносили в пробирки Эппендорф и хранили до исследования при температуре -40°C .

Концентрацию ЕРО и FABP исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «Эритропозтин — ИФА — БЕСТ» (А-8776) и «БСЖК — ИФА — БЕСТ» (А-9104), производства компании ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Все обследованные были разделены на две группы в зависимости от первичных результатов анализа спермы. Основную группу (группа 1, $n=18$) составили мужчины с пониженной фертильностью эякулята, обусловленной снижением концентрации сперматозоидов и/или их общего содержания. В группу сравнения (группа 2, $n=34$) вошли мужчины с нормальными показателями концентрации и общего содержания сперматозоидов. Группы были сопоставимы по возрасту.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ STATISTICA v.7 (StatSoft Inc., США). Для сравнения двух независимых выборок использовали *U*-критерий Манна-Уитни. Количественная оценка линейной связи между двумя случайными величинами определялась с использова-

нием коэффициента ранговой корреляции (R) по Спирмену. За максимально приемлемую вероятность ошибки первого рода (p) принималась величина уровня статистической значимости равная или меньшая 0,05.

Результаты и их обсуждение. Во всех образцах семенной плазмы здоровых мужчин и больных олигоастенозооспермией ЕРО и FАВР были обнаружены (табл. 1).

Таблица 1. Содержание ЕРО и FАВР в семенной плазме обследованных

	Основная группа (n=18)	Группа сравнения (n=34)	P (U-критерий Mann–Whitney)
ЕРО, мМЕ/мл	78,52±54,99 64,49 (41,96;118,16) 11,46–193,95	61,99±47,47 47,16 (18,15;90,94) 9,37–166,64	0,303 (U=252,0)
FАВР, нг/мл	1,22±0,09 1,2 (1,15;1,26) 1,08–1,42	0,30±0,19 0,28 (0,16;0,42) 0,007–0,79	0,011 (U=638,0)

Примечание: в числителе: среднее значение±стандартное отклонение ($M\pm SD$), в знаменателе: медиана и интерквартильный диапазон Me; 25% квартиль — 75% квартиль, под дробью Мин — Макс результаты

Средняя концентрация ЕРО в семенной плазме составила 67,71±50,29 мМЕ/мл, медиана 54,48 (25,83–109,22) мМЕ/мл. Отмечен большой разброс данных — в диапазоне от 9,37 до 193,95 мМЕ/мл, результаты различались в 20,7 раза. Медиана концентрации ЭПО у обследованных основной группы в 1,36 раза превышала результаты группы сравнения, однако различия носили статистически недостоверный характер. Коэффициент корреляции Спирмена между уровнем ЕРО и концентрацией сперматозоидов указывал на наличие слабой отрицательной корреляционной зависимости между ними ($R = -0,248885$).

Вероятно, что некоторое увеличение концентрации ЭПО в семенной плазме пациентов с пониженной фертильностью может быть обусловлено усилением продукции данного белка в ответ на нарушение кровоснабжение тестикул и формирование локальной гипоксии [1, 5, 10]. Причиной локальной гипоксии могут стать воспалительные процессы, нарушения формирования (крипторхизм), нарушение оттока крови (варикоцеле) и другие. Однако, учитывая

отсутствие статистически значимого изменения концентрации ЭПО в эякуляте данный показатель не может выступать в роли надежного лабораторного маркера нарушений сперматогенеза, так как не выявлено достоверной разницы соответствующих показателей у больных олигоастенозооспермией и у здоровых мужчин [5, 9].

Среднее содержание FABP в семенной плазме составило $1,35 \pm 0,26$ нг/мл и было близким к медианному значению концентрации, составившему 1,27 нг/мл (см. табл. 1). В отличие от ЕРО для FABP установлены статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения (табл.), а также установлена статистически значимая корреляция между уровнем FABP и концентрацией сперматозоидов ($R=0,66387$).

Достаточно высокая концентрация FABP в эякуляте является специфической особенностью данной биологической жидкости [4] и может быть обусловлено особенностями формирования данного биологического секрета. Одним из условий подготовки к исследованию эякулята является половой покой в течение 2–3 дней [3]. В данный период в органах репродуктивной системы происходит формирование и накопление сперматозоидов. Логично предположить, что при высокой скорости продукции этих клеток их накапливается больше, чем при низкой. Кроме того, известно, что в организме мужчины часть вырабатываемых сперматозоидов подвергается разрушению [2], что может сопровождаться высвобождением внутриклеточных белков в семенную плазму. Вероятно, более высокая концентрация FABP в сперме у лиц с высоким содержанием сперматозоидов обусловлено большей интенсивностью сперматогенеза. Низкое содержание FABP в эякуляте пациентов группы сравнения, возможно, обусловлено низкой скоростью продукции сперматозоидов и может расцениваться как неблагоприятный фактор [4, 8].

По нашему предположению, ЕРО спермы не может являться лабораторным маркером для выявления мужского бесплодия на доклинических стадиях. В противовес сказанному, концентрация FABP эякулята предположительно рассматривается как показатель характеризующий сперматогенез: малое содержание в сперме данного компонента протеома семенной плазмы может указывать на инфертильность мужчины, что в свидетельствует о маркерной функции FABP в диагностике мужского бесплодия. Необходимо дальнейшее изучение ЕРО и FABP в норме и при патологии органов мужской репродуктивной сферы.

Список литературы

1. Варламова О.Н., Червяковская О.Д. Эритропоэтин и его биологическая роль // Медицина: теория и практика. 2019. Т. 4, №3. С. 61-69.
2. Плосконос М.В., Николаев А.А. «Абортивный» апоптоз сперматозоидов: какова его доля в эякуляте фертильного мужчины? // Проблемы репродукции. 2014. №6. С. 70-75 doi: 10.17116/репро201420670-75.
3. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека / Пер. с англ. Н.П. Макарова. Науч. ред. Л.Ф. Курило. 5-е изд. М.: Капитал Принт, 2012. 291 с.
4. Соснин Д. Ю., Галькович К. Р., Зубарева Н. А., Кривцов А. В., Поздин Н. В. Белок, связывающий жирные кислоты, в сыворотке крови и сперме // Урология. 2019. №3. С. 95–100. doi: 10.18565/urology.2019.3.95-100
5. Соснин Д. Ю., Галькович К. Р., Кривцов А. В. Содержание эритропоэтина в семенной жидкости в норме и при олигоастенozo-оспермии // Андрология и генитальная хирургия. 2020. Т. 21, №4. С. 62–67. doi: 10.17650/2070-9781-2020-21-4-54-59
6. Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Cho C.L., Henkel R., Vij S., Arafa M., Panner Selvam M.K., Shah R. Male Infertility // Lancet. 2021. V. 397. №10271. P. 319-333 doi: 10.1016/S0140-6736(20)32667-2
7. Eguchi A, Iwasa M. The Role of Elevated Liver-Type Fatty Acid-Binding Proteins in Liver Diseases // Pharm Res. 2021. V. 38. №1. P. 89-95 doi: 10.1007/s11095-021-02998-x
8. Jamshidi J., Pouresmaeili F., Darvish H., Omrani D., Azargashb E., Sadeghi M.R., Lakpour N. FABP9 Mutations Are Not Detected in Cases of Infertility due to Sperm Morphological Defects in Iranian Men // Int J Fertil Steril. 2014. V. 7. №4. P. 275-280.
9. Temma K., Shimoya K., Hashimoto K. et al. Detection of erythropoietin in human seminal plasma // Fertil Steril. 2004. V. 81. Suppl 1. P. 798-801.
10. Yasuoka Y., Fukuyama T., Izumi Y. et al. Erythropoietin production by the kidney and the liver in response to severe hypoxia evaluated by Western blotting with deglycosylation // Physiol Rep. 2020. V. 8. № 12. e14485.

*Золотова Е.А.¹, Жиленкова Ю.И.¹,
Сироткина О.В.^{1,2,3}, Симакова М.А.¹,
Моисеева О.М.¹, Вавилова Т.В.¹*

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр
им. В.А. Алмазова»
Минздрава России
Санкт-Петербург

²ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова
Национального исследовательского центра
«Курчатовский институт»
Санкт-Петербург

³ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»
Минздрава России
Санкт-Петербург
zolotova_ea@almazovcentre.ru

**ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ
ТРОМБОЦИТАРНОГО И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРЕНЕСЕННОЙ ТРОМБОЭМБОЛИЕЙ
ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ**

Была охарактеризована популяция внеклеточных везикул у пациентов после эпизода тромбоза легочной артерии (ТЭЛА), разрешившейся с формированием хронической легочной гипертензии (ХТЭЛГ), методом проточной цитометрии. Количество CD41⁺ и CD105⁺ экзосом было выше у пациентов с ХТЭЛГ по сравнению с донорами. Выявлены значимые положительные корреляции между количеством CD41⁺ экзосом и уровнями СРБ и D-димера у пациентов с ХТЭЛГ.

Ключевые слова: хроническая тромбоземболическая легочная гипертензия, тромбоземболия легочной артерии, внеклеточные везикулы, экзосомы, проточная цитометрия.

*Zolotova E.A.¹, Zhilenkova Yu.I.¹, Sirotkina O.V.^{1,2,3},
Simakova M.A.¹, Moiseeva O.M.¹, Vavilova T.V.¹*

¹Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg

²Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of
National Research Centre «Kurchatov Institute, St. Petersburg

³Pavlov First State Medical University, St. Petersburg

INCREASE ON LEVELS OF PLATELET-DERIVED AND ENDOTHELIAL EXTRACELLULAR VESICLES IN PATIENTS AFTER PULMONARY EMBOLISM

Population of extracellular vesicles in patients after PE with pulmonary hypertension (CTEPH) using flow cytometry was characterized. Amount of CD41⁺ and CD105⁺exosomes were higher in patients compare to donors. Significant positive correlations between amount of CD41⁺ exosomes and levels of CRP and D-dimer in CTEPH patients were found.

Key words: chronic thromboembolic pulmonary hypertension, pulmonary embolism, extracellular vesicles, exosomes, flow cytometry.

Введение. Хроническая тромбоземболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ) является одним из вариантов посттромбоземболического синдрома у пациентов с перенесенной тромбоземболией легочной артерии (ТЭЛА) [1]. Циркулирующие внеклеточные везикулы участвуют в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, включая ХТЭЛГ [2]. Они являются важными регуляторами функции эндотелия, воспаления и процессов свертывания крови, и их уровень могут колебаться в зависимости от тяжести течения ХТЭЛГ [3]. В ряде исследований было показано, что уровень внеклеточных везикул может использоваться в качестве дополнительного лабораторного маркера при диагностике ХТЭЛГ [4]. К внеклеточным везикулам относятся микровезикулы, экзосомы и апоптотические тельца, однако внимание ученых сконцентрировано на изучении преимущественно экзосом [5].

Цель исследования: охарактеризовать популяцию внеклеточных везикул у пациентов после эпизода ТЭЛА, разрешившейся с формированием посттромбоземболического синдрома.

Материалы и методы. В исследование были включены 19 пациентов из реестра ХТЭЛГ НМИЦ им. А.А. Алмазова (средний возраст 50,5 [39,5; 64]; 7 мужчин, 12 женщин) и 10 здоровых доноров (средний возраст 48 [40,1; 53,8]; 5 мужчин, 5 женщин). Диагноз ХТЭЛГ был верифицирован в соответствии с рекомендациями Европейского общества кардиологов 2015 [6]. Все участники дали

информированное письменное согласие. Эксперименты были одобрены локальным этическим комитетом в соответствии с Хельсинкской декларацией. Образцы крови собирали в вакуумные пробирки с КЭДТА в качестве антикоагулянта. Всем пациентам в ЦКДЛ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» был выполнен клинический анализ крови на анализаторе 5-Diff (Cell-Dyn Ruby Abbott, США), измерен уровень С-реактивного белка (СРБ) (Cobas 2000, Roche Diagnostics, Франция) и D-димера (STA-compact, Diagnostica Stago SAS, Франция). Выделение экзосом проводили с использованием набора ExoFACS (HansaBioMed Life Sciences, Эстония) согласно протоколу производителя. Количество экзосом различного клеточного происхождения анализировали с помощью проточной цитометрии (CytoFlex B4-R2-V2, Beckman Coulter, США) с использованием флуоресцентно меченых антител к поверхностным маркерам клеток: CD41 (тромбоциты), CD45 (лейкоциты), CD235a (эритроциты) и CD105 (эндотелиоциты) [7]. Статистическая обработка результатов проводилась в программе SPSS 10.0. Количественные данные были описаны с использованием медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Me [Q1 -Q3]). Тест Манна–Уитни использовался для анализа двух независимых выборок при уровне значимости $p < 0,05$. Для анализа корреляций использовался метод Спирмана.

Результаты. В группе пациентов с постэмболическим синдромом наблюдались следующие показатели: СРБ — 5,09 [1,77; 9,8] мг/л, NT-proBNP — 1816 [493,4; 2066,8] пг/мл, D-димер — 0,33 [0,28; 1,1] мкг/мл FEU, фибриноген — 3,4 [2,9; 3,9] г/л. В контрольной группе уровень D-димера составил 0,36 [0,27; 0,40] мкг/мл FEU, уровень СРБ — 1,4 [0,3; 4,0] мг/л, фибриногена — 2,6 [2,1; 3,5] г/л. Количество экзосом тромбоцитарного происхождения (CD41⁺) было выше у пациентов с ХТЭЛГ по сравнению с донорами (40,75% [29,7; 55,8] и 27,2% [22,55; 31], $p=0,013$, соответственно); уровень экзосом эндотелиального происхождения (CD105⁺) увеличивался у пациентов в 2,5 раза (4,8% [3,25; 10,35] и 1,9% [1,43; 2,8] в группе ХТЭЛГ и доноров, соответственно, $p=0,003$). В то же время, количество экзосом лейкоцитарного и эритроцитарного происхождения не отличалось у больных и в контрольной группе (CD45⁺ — 8,3% [3,75; 9,55] и 8,8% [7,48; 10,88]), CD235a⁺ — 5,2% [4,3; 6,4] и 6,15% [5,28; 6,88], соответственно, $p=0,28$ и $p=0,16$). Были выявлены значимые положительные корреляции между количеством экзосом тромбоцитарного происхождения (CD41⁺) и уровнем СРБ ($r=0,786$, $p=0,021$) и уровнем D-димера ($r=0,510$, $p=0,044$) у пациентов с ХТЭЛГ. А также показаны значимые положительные корреляции между количеством экзосом тромбоцитарного (CD41⁺)

и эндотелиального (CD105⁺) происхождения ($r=0,733$, $p=0,025$); уровнем экзосом лейкоцитарного происхождения (CD45⁺) и количеством лейкоцитов ($r=0,767$, $p=0,016$) и числом нейтрофилов ($r=0,817$, $p=0,007$).

Выводы. Повышение уровня экзосом тромбоцитарного и эндотелиального происхождения у пациентов с ХТЭЛГ может объяснить патофизиологическую взаимосвязь между активацией гемостаза и воспалением. Измерение количества циркулирующих экзосом можно рассматривать в качестве дополнительного лабораторного маркера риска развития постэмболического синдрома у пациентов с перенесенной тромбоэмболией легочной артерии.

Список литературы

1. Kim N.H. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension / Kim NH., Delcroix M., Jais X et al. // *Respir J*. 2019. Vol. 53(1).
2. Ferrer E. A Potential Role for Exosomal Translationally Controlled Tumor Protein Export in Vascular Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension / Ferrer E., Dunmore B.J., Hassan D., Ormiston M.L. et al. // *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2018. Vol. 59(4), PP. 467-478.
3. Belik D. Endothelium-derived microparticles from chronically thromboembolic pulmonary hypertensive patients facilitate endothelial angiogenesis / Belik D., Tsang H., Wharton J., Howard L. et al. // *Journal of Biomedical Science*. 2016. Vol. 23(4)
4. Lipps C. Non-Invasive Approach for Evaluation of Pulmonary Hypertension Using Extracellular Vesicle-Associated Small Non-Coding RNA / Lipps C., Northe P., Figueiredo R., Rohde M. et al. // *Biomolecules*. 2019. Vol. 29;9(11)
5. Lawson C. Extracellular Vesicles: Evolutionarily Conserved Mediators of Intercellular Communication / Lawson C., Kovacs D., Findling E., Ulfelder E. et al. // *Yale journal of biology and medicine*. 2017. Vol. 90. PP. 481-491.
6. Galie N. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The joint task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS) / Galie N., Humbert M., Vachiery JL., Gibbs S. et al. // *Eur Heart J*. 2016. Vol. 37(1):67–11.
7. Fedorov A. Application of high-sensitivity flow cytometry in combination with low-voltage scanning electron microscopy for characterization of nanosized objects during platelet concentrate storage / Fedorov A., Kondratov R., Kishenko V., Mikhailovskii V. et al. // *Platelets*. 2020. Vol. 31(2). PP. 226-235.

УДК 577.29

*Мальцева Ю.И.¹, Горбенко Д.А.¹, Шкоденко Л.А.¹, Рубель М.С.¹,
Зарубаев В.В.², Слита А.В.², Колпащиков Д.М.^{1,3}*

¹Национальный исследовательский университет ИТМО

²Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера, Санкт-Петербург

³Университет Центральной Флориды в Орlando
y_maltseva@scamf-itmo.ru

ОБНАРУЖЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ МЕТОДОВ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ И ДНК-НАНОМАШИН

Был разработан метод детекции двуцепочечных фрагментов ДНК на основе изотермической амплификации SPA и ДНК-наномашин без потребности в нагревании для расплетения вторичных структур.

Ключевые слова: обнаружение патогенов, колориметрический анализ, исследование по месту лечения, Epstein-Barr virus, Human gammaherpesvirus 4, LAMP, ДНК-наносенсоры.

*Maltseva Yu.I.¹, Gorbenko D.A.¹, Shkodenko L.A.¹, Rubel M.S.¹,
Zarubaev V.V.², Slita A.V.², Kolpashchikov D.M.^{1,3}*

¹National Research University ITMO, St. Petersburg

²St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology
named after Pasteur

³University of Central Florida at Orlando

RAPID NUCLEIC ACID DETECTION BASED ON A COMBINATION OF ISOTHERMAL AMPLIFICATION AND DNA NANOMACHINES

A method for the detection of double-stranded DNA fragments based on isothermal amplification of SPA and DNA nanomachines without the need for heating to untwist secondary structures was developed

Key words: pathogen detection, colorimetric assay, point of care testing, Epstein-Barr virus, Human gammaherpesvirus 4, LAMP, DNA-nanosensors.

Своевременная идентификация возбудителей инфекционных заболеваний на ранних стадиях развития болезни позволяет вовремя начать подходящую терапию с целью избежать развития осложнений. Однако чувствительные и селективные диагностические системы, например ПЦР-тесты, требуют специального оборудования

и обученного персонала, недоступных в условиях отсутствия развитой инфраструктуры здравоохранения, что затрудняет раннюю диагностику. Биосенсорные системы для проведения исследования по месту лечения (point of care testing — POCt) на основе аптамеров могут позволить проводить диагностику в условиях ограниченности ресурсов благодаря простоте в использовании и мобильности [1]. Так, ранее созданные бинарные ДНК-сенсоры показали свою эффективность в комбинации с методом изотермической амплификации нуклеиновых кислот NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) для визуального обнаружения последовательностей РНК [2].

Для обнаружения двуцепочечных последовательностей ДНК часто используется изотермическая амплификация LAMP (loop-mediated isothermal amplification) [3], которая часто сопровождается накоплением продукта неспецифической амплификации [4]. В данной работе предлагается использование изотермической амплификации с помощью стеблепетлевого праймера (stem-loop-primer assisted isothermal amplification — SPA) [4] в комбинации с визуальным обнаружением двуцепочечной последовательности нуклеиновых кислот ДНК-наномашинами на модельном организме вируса Эпштейна–Барр (EBV).

Экстракция вирусной ДНК. Клеточную линию Vero (ECACC 84113001) использовали для культивирования EBV. Клетки инфицировали в суточных культурах, когда толщина монослоя достигала 80%. ДНК экстрагировали с помощью фенол-хлороформного метода. Концентрацию экстрагированной ДНК определяли с использованием спектрофотометра NP50, Implen, Германия.

Изотермическая амплификация. Для накопления целевой последовательности гена UL37 EBV проводили изотермическую амплификацию SPA. SPA выполняется с помощью ДНК-полимеразы Bst, одной пары канонических праймеров для ПЦР (FP и BP) и их производных в виде «петля-стебель» (SFP и SBP) (см. табл. 1).

Реакция осуществлялась в следующих условиях: 0,8 М Бетаина, 8 мМ MgSO₄, 1,25 мМ dNTP (каждого), 1,6 мкМ праймеров SFP и SBP, 0,8 мкМ праймеров FP и BP, 8 ед. Bst ДНК-полимеразы и 2 мкЛ 10х буфера для Bst ДНК-полимеразы, New England Biolabs Inc., USA; 60 минут при 65 °С. Продукты амплификации анализировали электрофорезом в 2% агарозном геле в TBE буфере.

Таблица 1. Последовательности олигонуклеотидов, использованных в работе

Название последовательности	Нуклеотидная последовательность
Детектируемая последовательность гена UL37	TGG GCG GGC GTC TCG CCG GAC TAT GGC CTC GGC ACG CTC GGC GTC GAT GGC GGG TGG CTG GAA CAG GCG GGC GAA TGT GTA ATC CCG GA
c-a2	GGGTAGGG tttt GCCGAGCGTGCC
t-a3-c	ATTCGTAATGCTGACTAGATAGAT tttcc CGCCATCGAC tttt GGGTTGGG
a4-t-a1	TGTTCCAGCCACC ttttt ATCTATCTAGTCAGCATT ACGAAT ttttt GAGGCCATAGTCCG
FP	TGGGCGGGCGTCTCG
BP	TCCGGGATTACACAT
SFP	tttataataataaaa TGGGCGGGCGTCTCG
SBP	tttataataataaaa TCCGGGATTACACAT

Детекция. Для обнаружения целевой последовательности использовали ДНК-наномашину, состоящую из трех олигонуклеотидных последовательностей-сенсоров: core-arm2, tile-arm3-core, arm4-tile-arm1 (см. табл. 1). Фрагменты a1 и a4 последовательности a4-t-a1 отвечают за расплетение дцДНК за счет гибридизации. Расплетение мишени облегчает доступ для селективного связывания с фрагментами a2 и a3 последовательностей c-a2 и t-a3-c. Это создает пространство для формирования структуры G-квадруплекса (G4), симметрично разделенного между последовательностями c-a2 и t-a3-c. Структура G4 собирается только при полной комплементарности всех частей и возможна только при появлении целевой последовательности. При связывании гемина со структурой G4 образуется ДНКзим, что катализирует окисление субстрата с появлением оранжево-коричневой окраски раствора [5].

Смесь 1 мкл анализа и 1 мкМ сенсоров инкубировали в реакционном буфере в течение 5 минут при комнатной температуре (23–25 °С). Далее в смесь добавляли 1 мкМ гемина, 1 мМ диаминобензидина и 1 мМ перекиси водорода и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут с последующим визуальным анализом и измерением оптической плотности ($\lambda=500$ нм) на спектрофотометре NP50, Implen, Германия, а также фиксацией окраски

путём перенесения каплей реакционного раствора на нейлоновую мембрану.

Результаты. В данной работе мы предложили использование ДНК-наносенсоров к методу изотермической амплификации SPA для визуального обнаружения вируса EBV. Общее время обнаружения составило менее 2 часов. В результате серийных разведений выделенной ДНК было обнаружено, что предел обнаружения составляет менее 0,5 нг исходной выделенной ДНК (см. рис. 2).

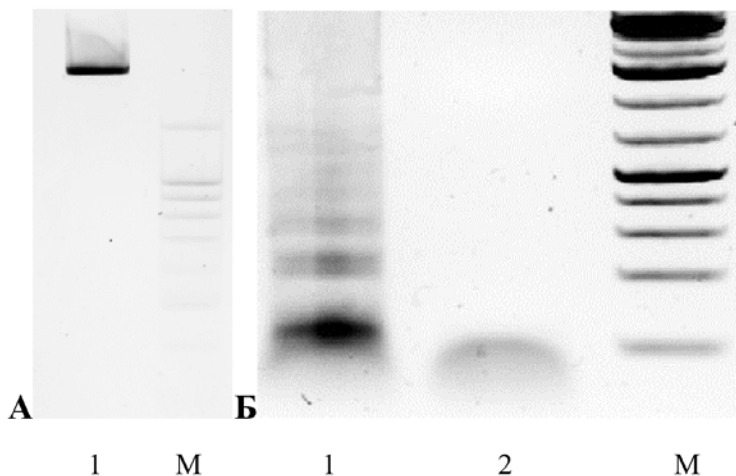


Рис. 1. Анализ ДНК и амплифицированных фрагментов в агарозном геле: А — Оценка качества выделенной ДНК EBV, где 1 — выделенная ДНК, М — маркер 100 bp+; Б — амплифицированный фрагмент, где 1 — амплифицированный фрагмент гена UL37, 2 — отрицательный контроль, М — маркер 100 bp+

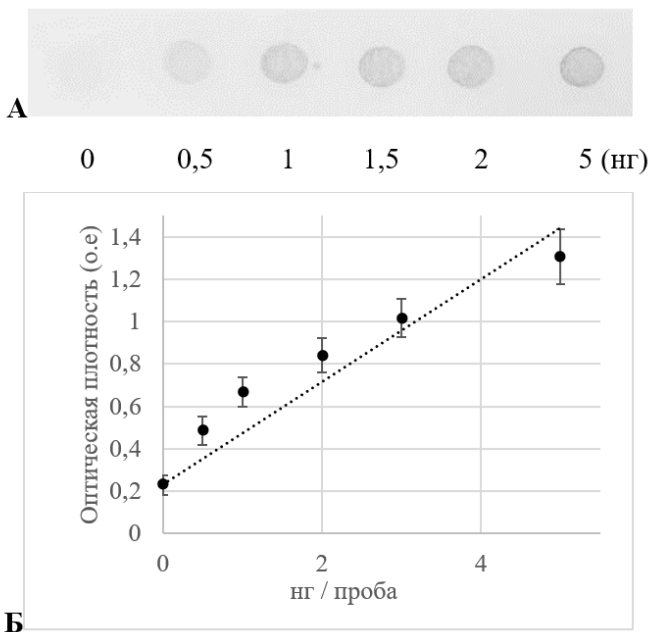


Рис. 2. Зависимость интенсивности окрашивания раствора от концентрации амплифицируемой ДНК EBV: А — окраска перенесенных на мембрану капель растворов; Б — график зависимости оптической плотности раствора от начального количества ДНК в пробе

Закключение. Таким образом, использование технологии визуальной детекции двуцепочечных фрагментов ДНК на основе ДНК-наномашин и изотермической амплификации может позволить осуществлять диагностику в условиях отсутствия специализированного оборудования и обученного персонала, а также повысить отношение сигнал/фон за счёт отсутствия неспецифического накопления продукта амплификации SPA. Использование разделенных проб, кроме генерации колориметрического сигнала, может быть использовано для детекции однонуклеотидных полиморфизмов с высокой точностью, а также для дополнительной защиты от ложноположительных результатов, ассоциированных с неспецифическим связыванием праймеров. Тем не менее эти предположения требуют дополнительного подтверждения в ходе дальнейших исследований.

Список литературы

1. Olasagasti F., Ruiz de Gordo J. C. Miniaturized technology for protein and nucleic acid point-of-care testing // *Transl. Res.* 2012. Т. 160. № 5. С. 332–345.

2. Горбенко Д.А., Шкоденко Л.А., Мальцева Ю.И. Рубель М.С., Штро А.А., Зарубаев В.В., Слита А.В., Колпашиков Д.М. Пероксидазоподобные дезоксирибозимы для детекции бактериальных и вирусных патогенов // *Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 3 декабря 2020 года / Под ред. А.В. Силина, Л.Б. Гайковой. Ч. 1. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2020. С. 253–259.*

3. Park K.S. Nucleic acid aptamer-based methods for diagnosis of infections // *Biosens. Bioelectron.* 2018. Т. 102. С. 179–188.

4. Luo G. et al. Stem-loop-primer assisted isothermal amplification enabling high-specific and ultrasensitive nucleic acid detection // *Biosens. Bioelectron.* 2021. Т. 184. С. 113239.

УДК 616.517-85.262]-07.616.5-018:577.1

**Тюнина Н.В., Гайковая Л.Б., Бурбелло А.Т., Павлова Р.Н.,
Власова Ю.А., Антонова Ж.В., Ермаков А.И.**

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

nadintv15@gmail.com

ВЫБОР МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ РЕДОКС-МОДУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ «ОМЕГА-3, 35» ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

В работе проведен анализ методов оценки эффективности и безопасности редокс-модулирующего действия «Омега-3, 35». Критерием и эффективностью и безопасности прооксидантного действия омега-3 ПНЖК при лечении псориаза является степень пероксидации липидов, поэтому в качестве критерия безопасности использовали определение конечного продукта перекисного окисления липидов — малонового диальдегида (МДА) и интерлейкин-8 (ИЛ-8), в качестве критериев эффективности — определение соотношения КАТ/СОД, ИЛ-8 и ИЛ-10

Ключевые слова: псориаз, АОС, интерлейкиновый статус, редокс-модулирующее действия препаратов содержащих омега-3 ПНЖК, методы оценки эффективности и безопасности препарата.

*Tyunina N.V., Gaykovaya L.B., Burbello A.T., Pavlova R.N.,
Vlasova Yu.A., Antonova Zh.V., Ermakov A.I.*

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

CHOICE OF METHODS FOR ASSESSING THE EFFICIENCY AND SAFETY OF REDOX-MODULATING ACTION "OMEGA-3, 35" IN TREATMENT OF PATIENTS WITH PSORIASIS

The paper analyzes methods for assessing the effectiveness and safety of the redx-modulating action of "Omega-3, 35". The criterion for both the efficacy and safety of the prooxidant action of omega-3 PUFA in the treatment of psoriasis is the degree of lipid peroxidation, therefore, the definition of the end product of lipid peroxidation, malonic dialdehyde (MDA) and interleukin-8 (IL-8), was used as a safety criterion. efficiency — determination of the CAT / SOD ratio and IL-8 and IL-10.

Key words: psoriasis, ROS, interleukin status, redox-modulating action of drugs containing omega-3 PUFAs, methods for assessing the effectiveness and safety of the omega-3 PUFAs.

Цель работы: провести сравнительный анализ и обоснование выбора методов оценки эффективности и безопасности применения «омега-3, 35», как препарата коррекции при добавлении к стандартной терапии при лечении больных псориазом.

Введение. Согласно современным представлениям, псориаз рассматривается как мультифакторное хроническое, воспалительное, иммунозависимое рецидивирующее заболевание, сопровождающееся повышенным уровнем пролиферации клеток кожи. Одним из факторов, способствующих запуску процессов пролиферации, является снижение интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО) и сдвиг редокс-состояния в сторону восстановленных эквивалентов в кератиноцитах [4,12] и крови [11]. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) для пациентов с псориазом являются патогенетическими и могут влиять на все звенья патологического процесса. [3]. Омега-3 ПНЖК являются источниками эйкозаноидов других классов по сравнению с омега-6 ПНЖК и субстратами для перекисного окисления липидов (ПОЛ), за счет большого количества двойных связей в своей структуре, следовательно, способны влиять на редокс-состояние клетки, тем самым оказывая влияние на интенсивность апоптоза и интенсивность псориазического процесса. Основные провоспалительные

медиаторы, участвующие в инициирующих шагах воспалительных реакций синтезируются из арахидоновой кислоты. Омега-3 — это специфический антагонист арахидоновой кислоты. У эйкозаноидов из омега 3 жирных кислот преобладают противовоспалительные эффекты, они снижают синтез провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, TNF- α , а повышают концентрацию противовоспалительных IL-4, IL-10.

Материалы и методы. В исследование было включено 75 пациентов с вульгарным псориазом в легкой и среднетяжелой формах, находившихся на стационарном лечении в дерматологической клинике СЗГМУ им. И.И. Мечникова и кожно-венерологическом диспансере №9. Все пациенты наряду со стандартной терапией получали омега-3 ПНЖК в виде биологически-активной добавки «Омега-3, 35%» в течение месяца (свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.88.003.Е.002704.06.17 от 15.06.2017, Россия, Мурманск, ООО «Полярис»). Определение лабораторных показателей крови проводили исходно, через 14 и 28 дней от начала комплексной терапии и приема «Омега-3, 35%». Все обследованные пациенты были случайным образом рандомизированы на 4 группы: 1-я — пациенты со стандартным лечением псориаза (15 человек), 2-я группа (15 человек) — пациенты, получавшие омега-3 ПНЖК в дозе по 1150 мг 3 раза в сутки (7 капсул по 1400 мг 35% омега-3) (суммарно 3450 мг/сутки); 3-я группа (15 человек) — пациенты, получавшие омега-3 ПНЖК в дозе 3450 мг 1 раз в сутки; 4-я группа (15 человек) — пациенты, получавшие омега-3 ПНЖК в дозе 2640 мг (5 капсул по 1400 омега-3) 1 раз в сутки, и контрольная группа, получающая «Омега-3, 35%» в дозе 2640 мг 1 раз в сутки. Выбор суточной дозы был обусловлен доказанным эффектом в проведенном ранее исследовании *in vitro* [11]. В группу контроля вошли 14 человек без каких-либо заболеваний кожи и не принимавших омега-3 ПНЖК на момент проведения исследования. Все группы были сопоставимы по полу и возрасту. В исследование включали пациентов после подписания информированного согласия и в соответствии со стандартами Хельсинской декларации

Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая утром натощак из локтевой вены с помощью стандартных вакуумных систем S-Monovette (производства компании SARSTEDT AG & Co, Германия) с антикоагулянтами К3-ЭДТА и литий гепарином или цитратом натрия.

Антиоксидантную систему (АОС) оценивали по активности каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) гемолизата крови [1] и их соотношения; концентрацию общих HS-групп плазмы крови

определяли фотометрическим методом с использованием реактива ДТНБК (5,5/дитиобис-2 нитробензойной кислоты) по методу Элмана [1], содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов — по малоновому диальдегиду (МДА) [6]. Определение состояния общей антиоксидантной активности оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА) путем определения антиоксидантной способности сыворотки нейтрализовать H_2O_2 (набор ImAxOx (TAS/TAC, ЗАО «БиоХимМак»). Апоптоз лимфоцитов крови анализировали по проценту жизнеспособных клеток, выявленных при помощи ДНК-связывающих красителей — YO-PRO-1 и PI методом проточной цитометрии на цитофлюориметре FC-500 («BeckmanCoulter», США) сразу после взятия крови (ранний апоптоз) и через 24 часа инкубации в условиях CO_2 -инкубатора при 37°C (поздний апоптоз).

Уровень цитокинов в сыворотке крови (интерлейкинов 8, 4, 10) определяли иммуноферментным методом с использованием соответствующих реагентов ЗАО «Вектор-Бест» по протоколу фирмы-изготовителя на базе ЦНИЛ и ЦКДЛ СЗГМУ им. И. И. Мечникова. Референтный уровень ИЛ-8 в сыворотках здоровых доноров составлял 0-10 пг/мл, уровень ИЛ-4 0-4 пг/мл, уровень ИЛ-10 0-31 пг/мл.

Критерием и эффективности и безопасности прооксидантного действия омега-3 ПНЖК при лечении псориаза является степень перекисидации липидов, поэтому в качестве критерия безопасности использовали определение конечного продукта перекисного окисления липидов — МДА [5], динамику содержания провоспалительного интерлейкина ИЛ-8, [7, 8] и провоспалительных интерлейкинов ИЛ-4 и ИЛ-10.

В качестве критерия эффективности оценивали соотношение активности КАТ/СОД, определение общих HS-группы плазмы, и концентрацию МДА. Выбор общих HS-группы плазмы связан с высокой реакционной способностью тиоловых групп и информативностью этого показателя у больных псориазом [9], участием белков плазмы крови в редокс-регуляции в организме путем глутатионирования [10, 13–15], и изменение их содержания у онкологических больных при изменении интенсивности процессов пролиферации [2].

Результаты. Сравнительный анализ методов проведен на примере серии исследования по использованию «Омега-3, 35%» как препарата коррекции при добавлении к стандартной терапии в суточной дозе 3450 мг и 2640 однократно (табл. 1).

Таблица 1. Показатели антиоксидантной системы крови, жизнеспособности лимфоцитов и интерлейкинов у больных псориазом при добавлении к стандартной терапии «Омега-3, 35%» в суточной дозе 3450 мг и 2640 при однократном приеме

Лабораторный показатель	До терапии Ме (C ₂₅ –C ₇₅)	«Омега-3, 35%» в суточной дозе 3450 мг		«Омега-3, 35%» в суточной дозе 2640 мг	
		На 14-й день Ме (C ₂₅ –C ₇₅)	На 28-й день Ме (C ₂₅ –C ₇₅)	На 14-й день Ме (C ₂₅ –C ₇₅)	На 28-й день Ме (C ₂₅ –C ₇₅)
Антиоксидантная система					
Каталаза (КАТ), у. ед.	5,11 (2,18–9,22)	5,07 (2,28–8,50)	4,57 (3,16–9,22)	4,97 (4,04–6,27)	5,38 (4,67–6,08)
Супероксид-дисмутаза (СОД), у. ед.	0,79 (0,22–1,80)	0,68 (0,34–1,10)	1,95** (0,50–2,05)	0,98 (0,79–1,17)	1,08** (0,59–1,57)
Соотношение КАТ/СОД	6,47 (6,04–6,97)	7,45 (7,05–9,15)	3,65** (3,22–4,08)	5,27 (4,82–5,72)	3,61** (2,57–4,65)
Малоновый диальдегид, нмоль/мл	4,60 (3,91–7,12)	5,48 (4,27–6,70)	6,46** (4,36–7,56)	5,49 (4,25–6,73)	5,42 (4,82–6,02)
Общие HS-группы плазмы, мкмоль/мл	8,39 (4,45–10,32)	6,09 (3,47–8,58)	5,45** (4,52–6,27)	8,05 (7,59–8,51)	7,20 (7,12–8,28)
Общая антиоксидантная активность	298,72 (246,65–352,65)	316,03 (273,25–359,25)	315,19 (272,25–358,25)	–	–

Показатели жизнеспособности лимфоцитов					
Количество лимфоцитов на ранних стадиях апоптоза, %	6,86 (2,54–12,14)	14,44 (11,15–19,28)	15,40** (11,13–19,26)	7,15 (3,50–8,90)	7,45 (4,30–9,70)
Количество лимфоцитов в % в стадии позднего апоптоза/некроза	0,55 (0,50–0,70)	0,66 (0,54–0,86)	0,69 (0,53–0,84)	1,55* (0,37–2,47)	0,40 (0,32–0,83)
Интерлейкины					
Интерлейкин-8 (ИЛ-8), пг/мл	10,32 (8,38–13,7)	13,42 (10,27–15,75)	16,25** (13,67–19,74)	17,58* (11,98–28,53)	8,15 (5,46–9,67)
Интерлейкин-10 (ИЛ-10), пг/мл	1,07 (0,50–1,74)	1,15 (0,90–1,32)	3,27** (2,85–3,85)	1,68* (0,91–2,04)	1,2 (0,1–1,3)
Интерлейкин-4 (ИЛ-4), пг/мл	0,675 (0,23–1,2)	0,814 (0,41–1,21)	1,0 (0,65–1,05)	–	–

Примечание: * достоверные различия между исходными данными и на 14-й день терапии ($p < 0,05$);

** достоверные различия между исходными данными и на 28-й день терапии ($p < 0,05$).

Общая антиоксидантная активность в контроле — 385,57 (360,32–410,35).

Интерлейкины в контроле: ИЛ-10 — 1,6 (1,3–1,9), ИЛ-4 — 1,21 (1,11–1,32), ИЛ-8 — 6,79 (5,58–8,86).

Результаты исследования позволили рекомендовать «Омега-3, 35» в дозе 2640 мг/сут, однократно, в течение 1-го месяца для включения в схему терапии псориаза. Наиболее информативными методами для оценки эффективности действия омега-3 ПНЖК являются определение общих HS-группы плазмы, соотношение активности КАТ/СОД, концентрация МДА, ИЛ-8 и ИЛ-10; для оценки безопасности действия препарата являются определение МДА и ИЛ-8. Показатель общейантиоксидантной активности не

согласуется с изменением активности КАТ и СОД, хотя основан на определении H_2O_2 , что также отмечено в работе [8]. Интерлейкин-10 имеет более выраженную динамику, по сравнению с ИЛ-4, поэтому выбран как критерий эффективности ИЛ-10.

Нами был проведен корреляционный анализ по сопоставлению изменений антиоксидантного статуса неунифицированными фотометрическими методами: общие SH-группы и МДА плазмы крови и иммунного статуса унифицированным ИФА методом: ИЛ-8 и ИЛ-10 (рис. 1).

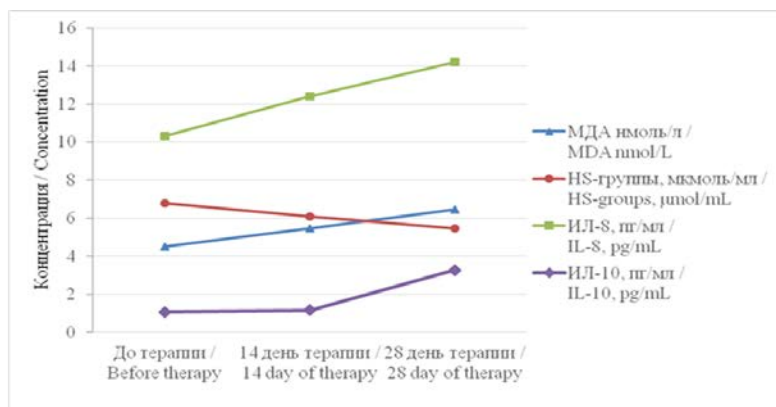


Рис. 1. Динамика изменений показателей антиоксидантной системы (МДА и общих SH-групп плазмы крови) и иммунной системы (интерлейкинов ИЛ-8 и ИЛ-10) у больных псориазом при использовании «Омега-3, 35» при однократном приеме в дозе 3450 мг/сутки

Проведенный корреляционный анализ выявил статистически значимую прямую взаимосвязь между концентрацией ИЛ-8 и МДА ($r_s=+$ 0,85, $p<0,05$) и обратную зависимость между концентрацией ИЛ-8 и SH-группами ($r_s=-$ 0,73, $p<0,05$) и между ИЛ-10 и SH-группами ($r_s=-$ 0,69, $p<0,05$).

Вывод. Наличие выраженной корреляционной зависимости между показателями антиоксидантного состояния и состоянием иммунной системы (интерлейкинами), полученными разными лабораторными методами свидетельствует о возможности в условиях клиничко-диагностических лабораторий для оценки эффективности и безопасности редокс-модулирующего действия омега-3 ПНЖК

содержащих препаратов при терапии псориаза использовать стандартизированные унифицированные иммуноферментные (ИФА) методы анализа.

Для оценки эффективности терапии с включением омега-3 ПНЖК в условиях клинико-диагностических лабораторий наиболее целесообразным является определение методом ИФА в крови у пациентов с псориазом концентрации ИЛ-8 и соотношение КАТ/СОД на 14-е и 28-е сутки, а для оценки безопасности концентрации ИЛ-8 на 28-е сутки и ИЛ-10 на 14-е и 28-е сутки.

Список литературы

1. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. СПб. 2000. 67 с.
2. Белоногов Р.Н. Редокс-зависимая модификация белков у больных раком легкого. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. 2010. 37 с.
3. Бурбелло А.Т. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в эксперименте и клинической практике /под ред. А.Т. Бурбелло, Л.Б. Гайковая, Г.А. Кухарчик. СПб., 2017. С. 370.
4. 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.
5. Зыбина Н.Н. Критерии и принципы оценки процессов свободнорадикального окисления в клинической лабораторной диагностике. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб, 2000. 46 с.
6. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э.Н. Коробейникова // Лаб. дело. 1989. № С. 8-9.
7. Мультимаркерная оценка эффективности и безопасности лекарственных препаратов с многофакторным действием / Л.Б. Гайковая, А.Т. Бурбелло, М.В. Комок, Т.В. Вавилова // Справочник заведующего КДЛ. 2015. № 7. С. 3-14.
8. Петина Г.А. Влияние тиолдисульфидной системы, окислительной модификации белков на функции нейтрофилов при окислительном стрессе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. г.Томск 2010. 26 с.

9. Попов К.А. Конформационные изменения белков плазмы крови при сочетанном течении сахарного диабета 2 типа и псориаза / Попов К.А., Мелконян К.И., Карташевская М.И. // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 1-1.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17763> (дата обращения: 20.06.2020).

10. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в реакциях организма на факторы окружающей среды / В.В. Соколовский. Санкт-Петербург: Наука, 2008. 118 с.

11. Сравнение препаратов океанола, полиена и омакора по действию на состояние антиоксидантной системы крови больных псориазом в опытах «in vitro» / Л.Б. Гайковая, Р.Н. Павлова, Н.В. Тюнина, Ж.В. Антонова, Ч.Р. Бейшебаева, М.Н. Смертина, Л.А. Карякина, К.С. Кукушкина // Профилактическая и клиническая медицина. 2017. № 4 (65). С. 48-55.

12. 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.

13. Hansen R., Roth D., Winther J Quantifying the global cellular thiol-disulfide status // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009. V. 106. №2. P. 422-427.

14. Protein Thiol Redox Signaling in Monocytes and Macrophages / J. D Short, K. Downs, S. Tavakoli, R. Asmis // Antioxid Redox Signal 2016 Nov 20;25(15):816-835. doi: 10.1089/ars.2016.6697. Epub 2016 Jul 13

15. Regulation of Cell Physiology and Pathology by Protein S-glutathionylation: Lessons Learned From the Cardiovascular System / D. Pimentel, D. Haessler, R. Matsui, J. R. Burgoyne, R. A. Cohen, M. Bachschmid //Antioxid Redox Signal. 2012 Mar 15;16(6):524-42.

ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ

УДК 377.1

*Астратенкова И.В.¹, Балахонов А.В.¹,
Голованова Н.Э.^{1,2}, Захарова Л.Б.¹,
Кулибаба Т.Г.¹, Парийская Е.Н.¹, Слепых Л.А.¹*

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

*astratenkova@mail.ru, balakhonov@mail.ru, nesh1764@mail.ru,
zakharova.l@inbox.ru, tatak9@mail.ru, lenap9159@mail.ru,
slepyh1953@mail.ru*

ШКОЛА И ВУЗ — ПРЕЕМСТВЕННОСТЬ ОБУЧЕНИЯ В МЕДИЦИНСКОМ ВЫСШЕМ УЧЕБНОМ ЗАВЕДЕНИИ

Важной задачей современного высшего медицинского образования является обеспечение его непрерывности на всех этапах обучения: школа — вуз — послевузовское образование. В данном исследовании показано, что проводимая в СПбГУ олимпиада «Дорога в медицину» как форма обучения играет важную роль в стимулировании познавательной деятельности и заинтересованности в получении профессии врача.

Ключевые слова: непрерывность этапов обучения, олимпиада школьников по медицине, познавательные потребности, студенты-медики.

*Astratenkova I.V.¹, Balakhonov A.V.¹, Golovanova N.E.^{1,2},
Zakharova L.B.¹, Kulibaba T.G.¹, Pariyskaya E.N.¹, Slepykh L.A.¹*

¹St. Petersburg State University

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
St. Petersburg

SCHOOL AND UNIVERSITY — CONTINUITY OF EDUCATION IN A MEDICAL HIGHER EDUCATIONAL INSTITUTION

An important task of modern higher medical education is to ensure its continuity at all stages of education: school — university — post-graduate education. This study shows that the Olympiad “The Road to Medicine” held at St. Petersburg State University as a form of training

plays an important role in stimulating cognitive activity and interest in obtaining the profession of a doctor.

Key words: continuity of learning stages, Olympiad of schoolchildren in medicine, cognitive needs, medical students

Введение. Современное высшее образование вообще и медицинское в частности требует высокой заинтересованности обучающегося к будущей профессии. В 2017 г. в Российской Федерации принята концепция о развитии непрерывного медицинского и фармацевтического образования. Одним из ее основных принципов является «преемственность и последовательность между уровнями и ступенями образования, обеспечивающая развитие компетенций от теоретических основ к умениям и овладению практическими навыками, от применения самооценки в профессиональной деятельности к формированию профессиональных компетенций» [1, с. 4].

Первым этапом в развитии молодого человека как будущего специалиста является формирование у школьника активного, заинтересованного и действенного отношения к выбору будущей профессии. Осознанный выбор в значительной степени определяет и то, как будет складываться дальнейший процесс обучения в вузе. Выбирая профессию врача, абитуриенту медицинского вуза необходимо иметь четкие представления о том, что реально его ожидает в будущем, освоение каких профессиональных навыков и теоретических знаний ему предстоит. Существенную помощь в решении непростой задачи выбора будущей профессии для школьников можно оказать в разных направлениях: совершенствование школьной подготовки по естественным наукам, создание специализированных школ с медико-биологическим уклоном и малых медицинских факультетов, привлечение школьников к исследованиям, проводимым в высших учебных заведениях или научно-исследовательских институтах, проведение профильных олимпиад. Так, например, основными целями различных Олимпиад школьников, проводимых Санкт-Петербургским государственным университетом, являются выявление и развитие у одаренных детей творческих способностей, формирование у них интереса к научно-исследовательской деятельности. Университет заинтересован в отборе хорошо подготовленных, мотивированных, талантливых, не шаблонно мыслящих абитуриентов.

Цель нашего исследования — оценить и проанализировать, как участие в олимпиадах меняет отношение к освоению предметов естественного профиля у школьников и студентов младших курсов медицинского факультета СПбГУ, поскольку формирование у обу-

чающихся разных уровней активного, заинтересованного и ответственного отношения к выбору будущей профессии способствует успешному обучению в вузе.

Материалы и методы. Данное поперечное исследование проводилось посредством психологического вербально-коммуникативного метода, в котором в качестве средства для сбора сведений от респондента использовалась специальная анкета. В исследовании принимали участие школьники 7-11-х классов (151 человек), участники олимпиады школьников СПбГУ «Дорога в медицину» или посетившие День открытых дверей медицинского факультета СПбГУ и студенты 1 (в конце 2 семестра) и 2 (в конце 4 семестра) курсов медицинского факультета СПбГУ (61 и 57 человек соответственно). Анкетирование проводилось анонимно, на добровольной основе.

Результаты и их обсуждение. Результаты анкетирования показали, что основной целью участников олимпиады «Дорога в медицину» являлась проверка знаний и эрудиции (68,8% — 7-9-й классы, 55,2% — 10-й, 71,1% — 11-й) (рис. 1).

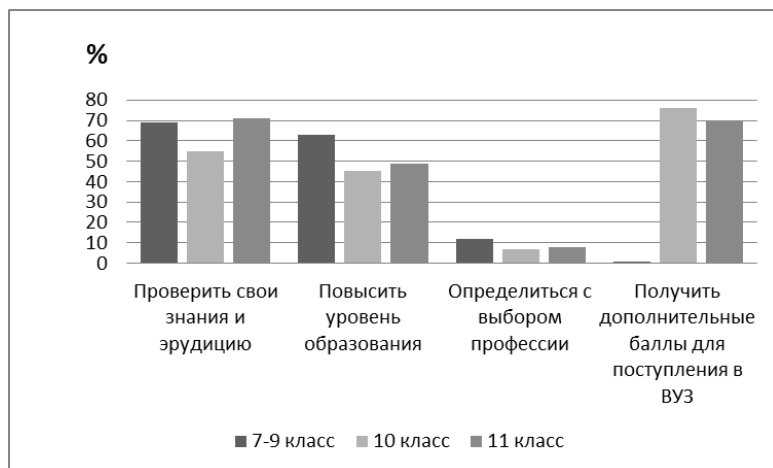


Рис. 1. Результаты ответа на вопрос: «С какой целью Вы участвовали в нашей олимпиаде?»

Также старшеклассники отметили, что важной целью было получение дополнительных баллов для поступления в медицинский вуз (75,8% — 10-й, 69,7% — 11-й). Наиболее часто школьники, интересующиеся естествознанием, участвуют в олимпиадах по биологии и химии различного уровня. Процент участия в олимпиа-

дах по этим дисциплинам среди участников олимпиады «Дорога в медицину» представлен на рис. 2.



Рис. 2. Участие школьников — участников олимпиады «Дорога в медицину» в других олимпиадах

В нашем исследовании среди учащихся, посетивших День открытых дверей СПбГУ, наибольшее количество участвовало в олимпиадах по химии (63%), несколько меньшее — 57,6% — по биологии и только 23% участвовали в олимпиаде по медицине. Не участвовали никогда в предметных олимпиадах 19%. Такие данные показывают, что активный школьник, участвующий в олимпиадах, выбирает несколько предметных дисциплин. Среди студентов, обучающихся на младших курсах медицинского факультета СПбГУ, 56,7% участвовали в олимпиаде школьников по биологии и 30,5% — по медицине перед поступлением.

Организаторы олимпиад по биологии различных вузов отмечают недостаточную подготовку старшеклассников по таким научным направлениям как физиология человека, генетика, цитология, молекулярная биология и т.д. [2, 3]. Отличие олимпиад по медицине состоит в том, что, основываясь на знаниях школьной программы, они включают дополнительный материал по фундаментальным дисциплинам, которые будут в дальнейшем изучаться в медицинском вузе [4]. Такой подход позволяет достичь нескольких целей, которым, к сожалению, в школе не всегда уделяют достаточно внимания. Основное внимание в школьной программе уделяется предъявлению большой массы фактического материала без

соответствующих обобщений системного характера (основная цель современных старшеклассников — успешная сдача ЕГЭ). Между тем от участника олимпиады требуется не только обязательное знание конкретного материала, но и умение проявить свой уровень развития, мышления, понимание цельности, взаимосвязанности и общности живого мира. Обратим внимание и на то, что олимпиада дает возможность школьнику проверить собственные знания и эрудицию в соответствующих областях. Это позволяет участнику приобрести уверенность в своих силах (или, наоборот, прийти к мысли, что медицина — «не моё»).

В СПбГУ олимпиада по медицине рассчитана на учащихся, начиная с 7 класса, что способствует последовательному расширению специальных медицинских знаний. Варианты включают задания с медицинской направленностью, они составлены с учетом ситуаций, с которыми сталкивается врач в своей практической работе, используется доступная медицинская терминология, что позволяет школьнику осмыслить свою будущую специальность. Очень важно, на наш взгляд, что по мнению участников (независимо от класса) «повышение интереса к профессии врача» наряду с «повышением уровня образования» и «расширением способности к логическому мышлению» является основным результатом участия в Олимпиаде СПбГУ.

Для подготовки к каждому этапу Олимпиады, преподаватели СПбГУ ежегодно проводят онлайн лекции с подробным разбором разнообразных заданий. Учебные пособия «Медицина» серии «Школьные олимпиады СПбГУ» предлагают варианты заданий для самообразования любому контингенту учащихся [5, 6, 7]. Такая форма работы активизирует учебно-познавательную деятельность школьников. Творческие задания помогают участнику выработать умение анализировать и обобщать явления и факты, устанавливать причинно-следственные связи в строении и функционировании клеток, тканей, органов и организмов в их взаимосвязях друг с другом и с условиями окружающей среды.

Среди основных различий, существующих между средней и высшей школами, важное место занимает недостаточное развитие у школьников самостоятельного управления собственной деятельностью. Между тем, спецификой высшей школы является именно самостоятельная деятельность студентов. Формирование у учащихся стойкой познавательной потребности неразрывно связано с самостоятельной работой. Олимпиады дают прекрасную возможность восполнить существующий пробел в личностном росте обучающихся. При обучении в медицинском вузе студент активно

вовлекается в деятельность, связанную с будущей профессией: студенческое научное общество, межвузовские олимпиады по клиническим дисциплинам, научные конференции, мастер-классы и т.д. [8, 9]. В процессе учебной деятельности происходит значительное увеличение потребностей студентов в знаниях, что способствует более успешному обучению в вузе.

Наше исследование показывает, что проводимая в СПбГУ олимпиада «Дорога в медицину» как форма обучения играет важную роль в стимулировании познавательной деятельности и заинтересованности в получении медицинского образования, что соответствует потребности педагогической науки и высшего профессионального образования в дальнейшей разработке и совершенствовании теоретико-методологического понимания сущности и содержания современного медицинского образования, системы и модели его реализации, а также потребностью клинической медицины в качественно новом враче-специалисте.

Список литературы

1. Приказ МЗ РФ от 21 ноября 2017 г. № 926 «Об утверждении концепции развития непрерывного медицинского и фармацевтического образования в российской федерации на период до 2021 года». [Электрон. ресурс]. Режим доступа: https://edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/documents/mz/2017/926.pdf (дата обращения: 15.12.2020)
2. Волошина М.А. Опыт проведения регионального этапа олимпиады школьников по биологии в Новосибирском государственном университете // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Педагогика. 2010. № 12(2). С.63–72.
3. Ефимова Н. В., Шилкова Т. В., Соколова Т. Л. Совершенствование содержания подготовки школьников к практическому туру регионального этапа всероссийской биологической олимпиады // Самарский научный вестник. 2019. № 8(2). С. 334-341.
4. Баковецкая О.В., Камаева С.А., Кальгина Т.А., Клейменова Ю.Ю., Царева О.А., Терехина А.А. Биологическая олимпиада как вектор интеграции школы и медицинского вуза // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 4. С.75-82.
5. Школьные олимпиады СПбГУ 2018. Медицина: учебное пособие / Астратенкова И.В., Балахонов А.В., Голованова Н.Э., Захарова Л.Б., Кулибаба Т.Г., Парийская Е.Н., Сабельникова М.Ю., Слепых Л.А., Соколова О.И. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2018. 103 с.

6. Школьные олимпиады СПбГУ 2019. Медицина: учебное пособие / Астратенкова И.В., Балахонов А.В., Голованова Н.Э., Захарова Л.Б., Кулибаба Т.Г., Парийская Е.Н., Сабельникова М.Ю., Слепых Л.А., Соколова О.И. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2019. 92 с.

7. Медицина. Школьные олимпиады СПбГУ: учебное пособие / Астратенкова И.В., Балахонов А.В., Васильев П.В., Голованова Н.Э., Захарова Л.Б., Кулибаба Т.Г., Парийская Е.Н., Сабельникова М.Ю., Слепых Л.А., Соколова О.И., Хабарова О.В. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2020. 92 с.

8. Balakhonov A., Churilov L., Erman M., Shishkin A., Slepikh L., Stroeve Y., Utekhin V., Basantsova N. Integration of educational and research activities of medical students (experience of the Medical faculty of Saint Petersburg State University). *Psychiatria Danubina*, 29 (1), S742-S758 // *Medicina Academica Mostariensia*. 2017. № 5(1-2). P.24-40.

9. Azami-Aghdash S., Ghojzadeh M., Nazavar R., Yaghoubi S., Vahedi L. Perspectives of faculty members toward Iranian National Olympiad for medical students: a qualitative study // *Russian Open Medical Journal*. 2016. № 5(4). DOI: 10.15275/rusomj.2016.0405

УДК 378.147

Витязева О.В., Наумова Л.А.

Государственный университет морского и речного флота
им. адмирала С. О. Макарова
Санкт-Петербург
kaf_chemistry@gumrf.ru

СИСТЕМА ДИСТАНЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ ОБЩЕЙ ХИМИИ

Информационные технологии активно внедряются во все сферы жизни современного общества, в том числе и в образовательную среду. Система информационно-коммуникационного обучения химии отвечает основным требованиям современного дистанционного обучения.

Ключевые слова: дистанционное обучение, информационно-коммуникационные технологии, системный подход.

DISTANCE LEARNING SYSTEM FOR GENERAL CHEMISTRY

Information technologies are being actively introduced into all spheres of modern society, including the educational environment. The system of information and communication training in chemistry meets the basic requirements of modern distance learning.

Key words: distance learning, information and communication technologies, a systematic approach.

Активное внедрение информационных технологий во все сферы жизни современного общества привнесло значительные изменения и в систему высшего профессионального образования. Однако несмотря на широкие перспективы дистанционного обучения для эффективной его организации требуется тщательно спланированная система образовательного процесса в преподавании отдельных учебных дисциплин. Она должна включать не только обязательный непосредственный контакт между студентами и преподавателями, но и правильно спланированную самостоятельную работу студентов, организованный процесс промежуточного и итогового контроля и управления.

На наш взгляд, именно системный подход к организации учебного процесса отвечает требованиям современного дистанционного обучения, а точнее система информационно-коммуникационного обучения [1]. Такая система включает в себя взаимосвязанное единство отдельных структурных компонентов: методическое обеспечение учебных занятий, методическое обеспечение самостоятельной работы и методическое обеспечение контроля и управления учебной деятельности.

В ФГБОУ ВО «ГУМРФ адмирала С.О. Макарова» разработана и применяется в настоящее время система дистанционного обучения химии. Она может быть успешно использована в преподавании общей химии, в том числе и в медицинском вузе. Главным акцентом информационно-коммуникационного обучения мы считаем четко установленную эффективную обратную связь студентов с преподавателями, обеспечивающую тщательно спланированный контроль индивидуальной самостоятельной работы обучающихся. На это указывают и другие практикующие педагоги [3].

Раздел «Методическое обеспечение учебных занятий» включает такие элементы как рабочая программа дисциплины, методическое обеспечение лекций и методическое обеспечение практической

подготовки, а также блоки «Интерактивное взаимодействие» и «Электронный курс».

В рабочей программе дисциплины содержится информация о реализации дисциплины «Химия» в системе дистанционного обучения университета «Фарватер», этапах практической подготовки, представлены актуальный перечень основной и дополнительной литературы, ссылки на электронный курс, современные базы данных по общей химии и информационные справочные системы.

В папке «Методическое обеспечение лекций» представлено электронное учебное пособие по химии, в котором есть глоссарий и конспект лекций курса и контрольные вопросы по отдельным темам, презентации в виде отдельных файлов и ссылки на электронно-информационные системы.

Методическое обеспечение практической подготовки включает указания к практическим работам и лабораторный практикум в виде прикрепленных файлов формата pdf. В этом разделе, кроме того, содержатся виртуальные лабораторные работы различной степени интерактивности, например, использование компьютерных симуляций рН-метра, позволяющих проводить виртуальные измерения рН кислот, солей и оснований. Эта виртуальная работа протестирована нами совместно с кафедрой химического и экологического образования Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена [2].

Модуль «Интерактивное взаимодействие» содержит объявления, видеоконференции и консультации. Здесь обучающиеся могут прослушать лекцию в реальном времени, у них появляется возможность пообщаться с преподавателями через электронную систему, задать возникшие вопросы в чате или через видеосвязь.

Раздел «Методическое обеспечение самостоятельной работы» содержит методические указания к самостоятельной работе студентов и способствует успешному усвоению тем, которые не включены в лекционный курс. Самостоятельная работа при этом подразумевает не только индивидуальные занятия студента с учебным материалом, различными аудио- и видеофайлами и другими интерактивными средствами обучения. Важнейшим компонентом здесь служит возможность обсуждения предоставленной информации с другими участниками учебного процесса в онлайн-режиме.

Методическое обеспечение контроля и управления учебной деятельности включает фонд используемых оценочных средств и контрольно-измерительных материалов: вопросы к зачету или

экзамену, примеры тестов по отдельным темам, элемент «Итоговое тестирование» с указанием критериев оценивания.

Система информационно-коммуникационного обучения обеспечивает свободный доступ к учебной информации, мгновенный дистанционный самоконтроль знаний студентов, постоянное обновление и дополнение научного материала, индивидуальное самообучение по темам, вызывающим затруднения в усвоении [4].

Многообразие информационно-коммуникационных технологий и средств организации учебного процесса в целом способствует успешному освоению образовательной программы по химии, что подтвердило применение их в экстремальных условиях пандемии COVID-19.

Список литературы

1. Васецкая Л.О. Система дистанционного обучения как средство информационно-коммуникационных технологий в образовательном процессе // Социально-экономическое управление: теория и практика. 2019. № 1 (36). С. 61-63.

2. Витязева О.В., Наумова Л.А. Виртуальные лабораторные работы в современном инженерном образовании // Информационные технологии в современном инженерном образовании // Материалы межвузовской научно-практической конференции. Санкт-Петербург, 2020. С. 45-49.

3. Иванова И. С., Попов А.С. Опыт использования электронного обучения при организации самостоятельной работы студентов I курса медицинского вуза при изучении дисциплины «Общая химия, биоорганическая химия» // Инновации в образовании: Матлы X юбилейной региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием, посвященной 100-летию ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, 25 марта 2020 года. Краснодар: КубГМУ, 2020. С. 196-200.

4. Итинсон К.С. Дистанционное обучение студентов в медицинском вузе // Наука сегодня: вызовы и решения: материалы международной научно-практической конференции. Вологда: Научный центр «Диспут». 2019. С. 131–132.

УДК 378.016.577

*Гайковая Л.Б., Антонова Ж.В., Павлова Р.Н.,
Власова Ю.А., Голованова Н.Э., Соколова М.Н.,
Бейшебаева Ч.Р., Крылова Л.С.*

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России
Санкт-Петербург

*largaykovaya@yandex.ru, antonova.janna2016@yandex.ru,
RNP.apr2020@yandex.ru, yuliya.vlasova@szgmu.ru,
nesh1764@mail.ru, margsm@yandex.ru, chinar17@yandex.ru,
lorywing@yandex.ru*

**ОПТИМИЗАЦИЯ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА В ХОДЕ ПРЕПОДАВАНИЯ
ДИСЦИПЛИНЫ «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» СТУДЕНТАМ
ЛЕЧЕБНОГО, МЕДИКО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО И
СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТОВ МЕДИЦИНСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА В РАМКАХ ДИСТАНЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ В
УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ COVID-19**

Рассматриваются возможные методы оптимизации преподавания дисциплины «Биологическая химия», обучающимся по специальностям 31.05.03 «Стоматология», 31.05.01 «Лечебное дело», 32.05.01 «Медико-профилактическое дело» в условиях дистанционного обучения.

Ключевые слова: виртуальная лабораторная работа, оптимизация учебного процесса, дистанционное обучение, виртуальная видеолекция.

*Gaykovaya L.B., Antonova Zh.V., Pavlova R.N.,
Vlasova Yu.A., Golovanova N.E., Sokolova M.N.,
Beishebaeva Ch.R., Krylova L.S.*

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

**OPTIMIZATION OF THE EDUCATIONAL PROCESS IN THE COURSE OF
TEACHING THE DISCIPLINE "BIOLOGICAL CHEMISTRY" TO STUDENTS
OF MEDICAL, MEDICAL- PREVENTIVE AND DENTAL FACULTIES OF
THE MEDICAL UNIVERSITY IN THE FRAMEWORK OF DISTANCE
LEARNING IN THE CONTEXT OF THE COVID-19 PANDEMIC**

The possible methods of optimization of teaching the discipline "Biological Chemistry" to students in the specialties 31.05.03 "Dentistry", 31.05.01 "Medical care", 32.05.01 "Medical and preventive care" in the conditions of distance learning are considered.

Key words: virtual laboratory work, optimization of the educational process, distance learning, virtual video lecture.

В соответствии с рекомендациям Министерства науки и высшего образования РФ по организации контактной работы обучающихся и педагогических работников в условиях пандемии все занятия по биологической химии проводились исключительно в электронной информационно-образовательной среде [1]. В связи с этим, на кафедре биологической и общей химии им. В.В. Соколовского были разработаны сценарии для проведения дистанционного обучения в онлайн — среде и требования к форматам учебного процесса. Они объединили все информационные технологии и ресурсы, используемые СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Нашей задачей оптимизации учебного процесса в условиях дистанционного обучения являлось выбрать те возможные варианты использования имеющихся у нас ресурсов, которые дали бы наилучшие результаты. Для обеспечения реализации образовательных программ в полном объеме [1] преподаватели использовали систему управления обучением Moodle (Modular Object-Oriented Dynamic Learning Environment — Модулярная Объектно-Ориентированная Динамическая Обучающая Среда), которая позволяет размещать на кафедральной странице Moodle различные учебные контенты для разных факультетов, изменять и пополнять их новыми учебными элементами (видеофильмами, слайд-презентациями, текстами, файлами с таблицами, схемами, учебно-методической литературой и т. д), настраивать необходимые задачи управления курсами и обучением (доступ к учебным материалам, время на решение заданий, модерация и т.д.).

При реализации образовательных программ всех факультетов в дистанционном обучении нами соблюдались все тематические планы лекций, практических занятий, лабораторных работ и их последовательность, предусмотренные расписанием, так же, как в очной форме обучения. Студентам разных факультетов, работавшим в «красной зоне», была предоставлена возможность обучения по индивидуальным учебным планам.

В рамках утвержденного расписания мы проводили запись видеолекций и онлайн вещание с помощью программного обеспечения OBS — Studio в интеграции с YouTube — каналом для онлайн-трансляции. Видеолекции по курсу биологической химии для лечебного, медико-профилактического и стоматологического факультетов размещались в Moodle на странице кафедры. Для контроля посещаемости виртуальных видеолекций и оценки усвоения лекционного материала были написаны и введены в систему Moodle те-

стовые задания, которые каждый студент должен был выполнить после окончания видеолекции. На кафедральной странице в Moodle все преподаватели открыли форумы групп для проведения занятий и отработок задолженностей, которые функционировали в течение всего периода дистанционного обучения. В форуме группы отмечалась тема и план проведения занятия, присутствие студентов на занятии по расписанию. В форуме преподаватель распределял вопросы, задачи, индивидуальные задания подобно тому, как это происходило на очных занятиях. В форуме преподаватель подробно записывал домашнее задание, ссылки на электронные ресурсы, учебно-методические пособия и т.д. Между студентами и преподавателями устанавливалась обратная связь посредством вопросов и ответов. Для проведения практических занятий на странице кафедры в Moodle были выложены в электронном виде учебно-методические пособия по всем факультетам, которые включали: подробные алгоритмы самоподготовки студентов по темам; вопросы и задания для самоподготовки; рекомендуемую основную и дополнительную литературу, глоссарий; дополнительную информацию; ход проведения лабораторных работ и т.д. [4–8].

Модель учебного процесса при дистанционном проведении практического занятия семинарского типа включала: 1. Компьютерное тестирование по теме в системе Moodle 2. Выполнение письменного задания текущего контроля (билеты), которое включало теоретический вопрос или небольшую ситуационную /учебную задачу по теме. Задания составляли специально для дистанционного обучения, рассылали индивидуально каждому студенту с использованием возможностей социальных сетей или электронной почты. Ответ необходимо было написать «от руки» (во избежание скачивания текстов из интернета и учебников) в течение строго определенного времени и прислать на электронную почту преподавателю. Письменный ответ оценивался в соответствии с критериями балльно-рейтинговой системы. При этом учитывались непредвиденные ситуации, связанные с возможностями аппаратуры или интернет-ресурсом. 3. Видеоконференция в программе Zoom, для участия в которой студент вводил ее идентификатор и мог подключаться как с компьютера, так и с мобильного устройства. Такой формат дистанционного занятия давал возможность осуществить опрос студентов и коррекцию ответов, объяснение наиболее трудных вопросов преподавателем, провести групповую дискуссию в соответствии с принципами интерактивного обучения в режиме реального времени и позволил таким образом влиять на эффективность дистанционного обучения в целом. Примерные вопросы для

групповой дискуссии составляли преподаватели –кураторы тем. Критерием оптимальности учебного процесса в данном случае являлось полноценное усвоение учебного материала студентами. Так были выделены темы, вызывающие наибольшие трудности в усвоении: «Обмен липидов в тканях» и «Обмен белков в тканях». На эти темы были созданы фильмы с подробным и доступным объяснением материала. По расписанию занятий также предусматривались лабораторные работы, проведение которых даже в дистанционном формате обучения было необходимо сохранить, т. к. на этих занятиях у студентов развивается способность к участию в научных исследованиях и умение самостоятельно интерпретировать полученные данные [2]. Преподаватели кафедры сняли видеофильмы с лабораторными работами, которые в совокупности составили виртуальную биохимическую лабораторию. В виртуальной лабораторной работе крупным планом показывали реактивы и оборудование, все этапы проведения исследования, показания приборов и т. д, что имело эффект присутствия. Лабораторное занятие складывалось из 2-х этапов: 1. просмотра видеофильма с виртуальной лабораторной работой, проведение типовых расчетов, оформление протокола работы; 2. коллективное обсуждение на платформе Zoom клинико-диагностического значения полученных в лабораторной работе результатов, что необходимо для профессиональной компетентности будущего специалиста [3]. Самостоятельная работа студентов, связанная с решением ситуационных задач в условиях дистанционного обучения, осуществлялась с помощью образовательных кейсов [3], оформленных в виде электронных папок с исчерпывающим информационно-учебным контентом, размещенных на странице кафедры в Moodle. Преимущества кейс-технологии и способы ее использования для преподавания биологической химии были подробно рассмотрены нами ранее [2]. Внедрение информационных технологий для организации самостоятельной работы студентов способствует: доступности учебных материалов и активизации интереса обучающихся; адаптивности к темпам, времени, месту выполнения учебных задач; оптимизации скорости проверки и оценки результатов обучения студентов электронными системами [9].

Все коллоквиумы проводились в 3 этапа: онлайн-тестирование по пройденному разделу в Moodle; письменные ответы на задания (по времени), которые включали вопросы на знание процессов и реакций; собеседование по контрольным вопросам на платформе Zoom. Следует отметить, что все присланные письменные работы студентов были тщательно проанализированы преподавателями на предмет наличия типичных ошибок, связанных с каким-либо не-

допониманием вопросов темы. Студенты получали от преподавателя в ответном сообщении оценку, письменные комментарии к работе, объяснения и рекомендации. Таким образом, не смотря на отсутствие реального контакта со студентами, нам удалось сохранить индивидуальный подход в преподавании биологической химии в условиях дистанционного обучения. Кроме того, немаловажно акцентировать внимание на актуализации изучаемых тем и этапах адаптивной коррекции знаний с дальнейшим обсуждением результатов онлайн-заданий в чатах. Для оптимизации процесса дистанционного образования также необходимо выбирать наиболее предпочтительные методы и средства адаптивного обучения биологической химии, которые эффективно воздействовали бы на визуальный, аудиальный, кинестетический каналы восприятия студентов [10–12].

Промежуточная аттестация (экзамен) на стоматологическом факультете была проведена в дистанционной форме с использованием возможностей платформы Moodle и включала онлайн-тестирование (60 тестов/30 минут) и решение онлайн ситуационной задачи (20 мин). Оценка формировалась с учетом рейтингового балла, оценок за тестирование и задачу. Экзамен показал хорошие результаты. Такая огромная творческая и профессиональная деятельность всего коллектива кафедры потребовала с одной стороны мобилизации огромных временных, интеллектуальных, эмоциональных ресурсов преподавателей, но с другой стороны подарила нам бесценный педагогический опыт, который мы, несомненно, сможем использовать в дальнейшем.

Список литературы

1. Приказ Министерства науки и высшего образования РФ от 14 марта 2020 г. № 397 «Об организации образовательной деятельности в организациях, реализующих образовательные программы высшего образования и соответствующие дополнительные профессиональные программы, в условиях предупреждения распространения новой коронавирусной инфекции на территории Российской Федерации» [Электронный ресурс] URL: https://minobrnauki.gov.ru/ru/documents/card/?id_4=1064 (дата обращения: 30.04.2020).

2. Гайковая Л.Б., Антонова Ж.В., Павлова Р.Н., Соколова М.Н., Голованова Н.Э. Методические аспекты преподавания учебной дисциплины «Биологическая химия-биохимия полости рта» студентам начальных курсов стоматологического факультета медицинского университета // В сборнике: 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.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2020. Т. 2. С. 256-261

3. Тепляшина Е.А., Ермолович Е.В. Использование информационных технологий в преподавании дисциплины «биохимия» студентам медицинского университета. Образование и наука. 2016;(9):90-108. <https://doi.org/10.17853/1994-5639-2016-9-90-108>

4. Белки. Ферменты. Витамины: учебно-методическое пособие к практическим и лабораторным занятиям по биологической химии — биохимии полости рта для студентов стоматологических факультетов медицинских вузов / под ред. Ж.В. Антоновой, Р.Н.Павловой, В.А. Дадали. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2019. 148 с.

5. Метаболические нарушения и зубочелюстная система: учебно-методическое пособие для студентов стоматологических факультетов медицинских вузов / под ред. Л.Б. Гайковой, Ж.В. Антоновой, Р.Н. Павловой. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2017. 128 с.

6. Обмен углеводов. Энергетический обмен. Гормональная регуляция обмена веществ и функций организма: учебно-методическое пособие к практическим и лабораторным занятиям по биологической химии — биохимии полости рта для студентов стоматологических факультетов медицинских вузов / под ред. Ж. В. Антоновой, Р. Н. Павловой, Л. Б. Гайковой. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2019. 100 с.

7. Химия и обмен липидов. Обмен белков: учебно-методическое пособие к практическим и лабораторным занятиям по биологической химии для студентов лечебного факультета / под ред. В.А. Дадали, Ю.А. Власовой. 4-е изд. переработ. и доп. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2020. 128 с.

8. Тканевая биохимия: учебно-методическое пособие к практическим и лабораторным занятиям по биологической химии для студентов медико-профилактического факультета медицинских вузов / под ред. Л. Б. Гайковой, М.Н. Соколовой. 4-е изд., перераб. и доп. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2020. 108 с.

9. Иванова И. С., Попов А. С. Опыт использования электронного обучения при организации самостоятельной работы студентов I курса медицинского вуза при изучении дисциплины «общая химия, Биоорганическая химия» // Инновации в образовании: Мат-лы X юбилейной региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием, посвященной 100-летию

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, 25 марта 2020 года. Краснодар: Кубанский государственный медицинский университет, 2020. С. 196-200.

10. Иванова И. С., Степанова Н. П., Соколова Е. А., Попов А. С. Об изучении гетероциклов в условиях дистанционного обучения // Химия в школе. 2021. № 2. С. 41-45.

11. Иванова И. С., Попов А. С. Организация и мониторинг самостоятельной работы студентов по химии с использованием электронных средств обучения // Информационные технологии в современном инженерном образовании: материалы межвузовской научно-практической конференции, Петергоф, 15 апреля 2020 года. Санкт-Петербург: Военный институт (ЖДВ и ВОСО), 2020. С. 97-101.

12. Степанова Н.П., Соколова Е.А. Использование ситуационных задач по химии при дистанционном обучении студентов I курса медицинского университета // Современное образование: содержание, технологии, качество. Материалы XXVII международной научно-методической конференции. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2021, с. 91-93.

УДК 378.147.88

Ермишина Е.Ю.

ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет» Минздрава России
Екатеринбург
ermishina.e.yu@mail.ru

**ОРГАНИЗАЦИЯ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
«ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПЕДИАТРИЧЕСКОГО
ФАКУЛЬТЕТА В СИСТЕМЕ ДИСТАНЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ MOODLE**

«Экологическая химия» — дисциплина по выбору для студентов 1 курса педиатрического факультета включает 8 практических занятий. Проведение лабораторных работ, осуществлявшихся дистанционно, наиболее эффективно контролировалось в системе Moodle.

Ключевые слова: дистанционное обучение, система Moodle, экологическая химия.

**ORGANIZATION OF PRACTICAL CLASSES IN THE DISCIPLINE
"ENVIRONMENTAL CHEMISTRY" FOR STUDENTS OF THE PEDIATRIC
FACULTY IN THE MOODLE DISTANCE LEARNING SYSTEM**

"Environmental Chemistry" is an optional discipline for 1st year students of the pediatric faculty includes 8 practical lessons. Remote laboratory work was most effectively controlled in the Moodle system.

Key words: distance learning, Moodle system, environmental chemistry.

Электив «Экологическая химия», разработанный для студентов педиатрического факультета ФГБОУ ВО УГМУ в 2011 г. в рамках ФГОС 3 ВПО [1], позволяет развить представление о влиянии различных факторов окружающей среды на здоровье детского населения, закладывает основы методологии медико–экологического мониторинга состояния детского здоровья. За 10 лет курс значительно расширился и количество студентов, посещающих данный электив в 2021 г., составило 170 человек. Проведение лекций и лабораторных работ было организовано на платформе Teams [2]. Лекции читались в режиме on-line, лабораторные работы проводились очно небольшой группой студентов 10 человек. Остальные студенты (160 человек) наблюдали ход опыта и обрабатывали полученные в ходе опытов результаты в режиме on-line. Осуществлялся контроль посещения лекций и практических занятий, а также понимание материала в форме различных тестов: на базе приложения Google Forms или в системе дистанционного обучения Moodle. Ответы студентов обрабатывались с помощью программы Microsoft Excel. Для лабораторных работ вначале курса практиковалось письменное оформление с последующим предоставлением отчета на электронную почту преподавателя. Но такая форма работы оказалась неэффективной ввиду большого массива обработки информации преподавателем и невысокой мотивации со стороны студентов, так как осуществлялось механическое переписывание отчетов друг у друга.

Лабораторные работы для проведения on-line занятий с большим количеством студентов были оформлены в презентацию Microsoft Power Point, которая включала краткое изложение теории, примеры решения практических заданий, ход опытов, рабочие таблицы и обсуждение необходимых выводов. Всего было 8 лабораторных работ: по электропроводимости различных растворов, каче-

ственные реакции на органические вещества, исследование осмотических свойств растворов и 5 работ по титрованию [3]. Занятие начиналось с краткого изложения теоретического материала, решения задач, далее ставилась цель занятия, и записывалось выполнение опытов. В это время студенты, находящиеся в аудитории, начинали выполнять проведение опытов. У каждой пары студентов был свой вариант задания, соответствовавший вариантам задания двух групп, находившихся on-line. Вариантов задания обычно было 6, так как электив посещали 12 академических групп. Результаты эксперимента, полученные студентами на практике, сразу записывались в таблицу в презентации. Одновременно осуществлялся видеопозаказ опытов в реальном времени и запись всего занятия. Видеопозаказ занятия выкладывался на ю-туб канал или мог быть скачан из программы Teams. Далее студенты обсчитывали результаты эксперимента и могли обсудить с преподавателем сложные моменты. По окончании занятия открывался тест, позволяющий контролировать качество усвоения материала практического занятия. Тесты на базе приложения Google Forms были проще, так как программа не позволяет создать несколько однотипных вопросов и все студенты отвечали на одни и те же вопросы.

Система дистанционного обучения Moodle выбирает тестовые вопросы из базы, позволяет студентам отвечать несколько раз, добиваясь максимального балла, и легко обрабатывает результаты, что облегчает работу преподавателя. Поэтому данная система отвечает всем необходимым требованиям и наилучшим образом подходит для дистанционного образования.

По окончании курса было проведено анкетирование на базе приложения Google Forms среди студентов, посещавших электив «экологическая химия». Большинство студентов (90,2%) понимали 80-90% материала, изложенного на лекциях и практике. 97,6% опрошенных были удовлетворены качеством лекций и практических занятий на платформе Teams. 100% студентов одобрили удобство пользования материалами (видеозаписями лекций и практических занятий, видеопозаказом к лабораторным работам), представленными на ю-туб канале. Ответы на вопросы теста в Moodle предпочли 56,1% опрошенных студентов, 34,1% выбрали тест в Google Forms, остальные 9,8% были за письменный отчет.

Практические навыки, которые приобрели студенты в ходе проведения практических занятий, также были на высоком уровне: знание химической посуды — 87,8%, умение обобщать экспериментальные данные — 73,2%, умение титровать — 68,3%, умение проводить качественные реакции — 63,4%.

85,3% были уверены, что курс «экологическая химия» был организован правильно, и все было понятно. 4,9% студентов отметили, что химию все же нельзя изучать on-line. 11,8% имели трудности технического характера, не связанные с усвоением курса.

По совокупности баллов, полученных за семестр студентам, посещавшим элективный курс «экологическая химия» выставлялся зачет. 66,0% набрали от 60 до 80 баллов. 31,2% студентов также получили зачет, набрав от 50 до 59 баллов. И только 2,8% студентов зачет не получили. Достаточно высокие баллы за дисциплину по выбору были обусловлены возможностями системы Moodle. Система удобна для дистанционного обучения и обладает расширенными возможностями по предварительному контролю знаний – репетиционному тестированию, предваряющему итоговый контроль. Студенты имеют возможность многократно проходить тест, система выбирает наилучший результат. Удобный интерфейс позволяет сделать тестовые вопросы не только по теоретическим вопросам, данным в лекции, но и к практическим занятиям. Отчеты по лабораторным работам легко встраиваются в данную систему и удобны для проверки. Использование системы дистанционного образования Moodle при изучении элективного курса «экологическая химия» повышает мотивацию студентов к получению максимального балла за семестр и благотворно влияет на развитие профессиональных и общекультурных компетенций.

Список литературы

1. Моисеева Л.В., Белоконова Н.А., Ермишина Е.Ю., Бадина Т.А., Даулетова С. Эффективность дистанционной образовательной технологии изучения дисциплины «Экологическая химия» студентами медицинского вуза // Педагогическое образование в России. 2020. № 4. С. 121–128.

2. Бадина Т.А., Ермишина Е.Ю. Дистанционное обучение в нестандартной ситуации современности // Стратегические ориентиры современного образования. 2020. С. 204–206.

3. Ермишина Е.Ю., Бородулина Т.В., Наронова Н.А., Белоконова Н.А., Бадина Т.А. Изучение дисциплины по выбору «Экологическая химия» как промежуточный этап формирования самостоятельной работы студентов педиатрического факультета // Вектор науки ТГУ. Серия: Педагогика, психология. 2020. № 4 (43). С. 20–28.

Иванова И.С., Попов А.С., Гайковая Л.Б.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

Санкт-Петербург

ivanovaira1@yandex.ru

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ СИТУАЦИОННЫХ ЗАДАЧ ПО ХИМИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКИХ ВУЗОВ

Статья посвящена вопросу необходимости учёта ряда особенностей при разработке ситуационных задач по химии для студентов медицинских вузов, таких как: детерминированность ситуации; обхват темы; многоэтапность и многоуровневость структуры, ориентированность на практику и будущую профессиональную деятельность. Авторы отмечают, что ситуационные задачи не должны являться единственным инструментом оценивания. Это необходимо учитывать при проведении экзамена.

Ключевые слова: ситуационные задачи, обучение химии в медицинском вузе.

Ivanova I.S., Popov A.S., Gaykovaya L.B.

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

St. Petersburg

FEATURES OF THE DEVELOPMENT OF SITUATIONAL TASKS IN CHEMISTRY FOR STUDENTS OF MEDICAL UNIVERSITIES

The article is devoted to the question of the need to take into account a number of features when developing situational tasks in chemistry for medical students, such as: the determinism of the situation; the scope of the topic; multi-stage and multi-level structure, focus on practice and future professional activity. The authors note that situational tasks should not be the only assessment tool. This should be taken into account when conducting the exam.

Key words: situational tasks, teaching chemistry at a medical university.

Химия является фундаментальной дисциплиной в любом медицинском вузе, она является основой для последующих дисциплин профессиональной подготовки врача (биохимии, фармакологии и др.). Если обратиться к стандартам, то ФГОС 3++ направляет на освоение студентами значительного числа универсальных и общепрофессиональных компетенций. Традиционные тесты не справля-

ются с их оцениванием, приводя к необходимости комплексной оценки. На помощь преподавателям приходят ситуационные задачи.

В педагогической и методической литературе, можно встретить различные определения понятия «ситуационная задача»: «это задача, позволяющая обучающемуся последовательно осваивать интеллектуальные операции в процессе работы с информацией: ознакомление – понимание – применение – анализ – синтез – оценка» [8]; «это средство обучения, включающее совокупность условий, направленных на решение практически значимой ситуации с целью осознанного усвоения учащимися содержания учебного предмета» [2]; «ситуационная задача — это вид учебного задания, имитирующий ситуации, которые могут возникнуть в реальной действительности» [6] и др.

По нашему суждению ситуационная задача по химии — это активный метод обучения химии (мотивации, актуализации, усвоения, закрепления, совершенствования и контроля знаний, умений и ценностных отношений обучающихся по химии), направленный на решение практически значимой химической ситуации, требующий от обучающегося рассмотреть её на разных уровнях обученности (узнавания, воспроизведения, применения и трансформации знаний и умений).

Ситуационная задача позволяют оценить уровни сформированности компетенций студентов, если она:

1. Не содержит вариативности и неоднозначности, чтобы избежать трудности в оценивании.

Исследователи отмечают [7, 9], что вариативность хороша в обучении, но не годится для итоговых оценочных процедур. Необходимо детерминированность ситуации.

2. Охватывает тему, обширную область знаний.
3. Многоэтапная по структуре.

При составлении такой многоэтапной структуры желательно вопросы в ситуационной задаче создавать локально-независимые при оценивании, но с общей сюжетной линией. Не во всех дисциплинах медицинского вуза, к сожалению, это можно реализовать. Так как от правильно поставленного диагноза в медицине (ключевого вопроса) зачастую зависит возможность правильного ответа на остальные вопросы. При составлении ситуационной задачи по дисциплине «Химия» можно придерживаться многоуровневой структуры без наличия причинно-следственной связи. Причинно-следственную связь рекомендуем оставить для задач обучающего характера.

4. Многоуровневая по структуре.

Создавать задания, требующие от обучающегося рассмотреть её на разных уровнях обученности [3] (узнавания, воспроизведения, применения и трансформации знаний и умений).

5. Практико-ориентированная.

В ситуационной задаче должна прослеживаться ориентация на практику и будущую профессиональную деятельность. В химии (и других науках, основывающихся на практике) для того, чтобы выявить действительный уровень знаний и умений, представленных в форме индикаторов компетенций необходимо использовать практические задания.

Приведем пример такой задачи:

В биологии и медицине используются объекты, в которых возникает заряд на твердой поверхности из-за ионной адсорбции.

1.1. Приведите примеры таких объектов или явлений.

1.2. Связано ли правило Панетта–Фаянса с возникновением заряда на границе раздела фаз, поясните?

1.3. Является ли адсорбция ионов по правилу Панетта–Фаянса физической, или хемосорбцией?

1.4. Почему в этом правиле уточняется, что адсорбент — это кристалл?

1.5. Какие характеристики ионов позволяют говорить, что они будут изоморфными друг другу?

1.6. Дайте развернутый ответ: ионы кальция и магния — ионы антагонисты в организме, они изоморфны друг другу — речь идет об одном и том же, или нет?

Принимая во внимание выше перечисленные особенности необходимо также понимать, что ситуационные задачи не должны являться единственным инструментом оценивания. Это необходимо учитывать при проведении экзамена, так рейтинг, тестирование (предэкзаменационное, экзаменационное) позволяет избежать ошибочной оценки. А актуализация задач с привлечением образовательной платформы MOODLE [4, 5], ресурсов Интернет, программных продуктов (ACD/ChemSketch; ChemDraw, BIOVIA Draw и др.), баз данных (SciFinder и др.), виртуальных лабораторий (MapГУ, VR CHEMISTRY LAB и др.) делает студентов в дальнейшем более конкурентоспособными.

Мы рекомендуем использовать ситуационные задачи на всех этапах изучения дисциплины «Химия», не забывая вовлекать студентов в процесс составления задач, в том числе в рамках самостоятельной работы.

Решение ситуационных задач способствует развитию самоорганизации, что особенно важно при дистанционном обучении [10]. Как отмечают практикующие педагоги [1] в результате такой работы происходит мотивация студентов к познавательной активности, формирование креативного мышления, создаётся доброжелательная атмосфера для высказывания различных точек зрения, приобретается опыт работы в команде. Обучение становится живым, интересным, несмотря на изобилие теоретического материала, что важно для студентов младших курсов.

Список литературы

1. Гайковая Л.Б., Антонова Ж.В., Павлова Р.Н. Соколова М.Н., Голованова Н.Э. Методические аспекты преподавания учебной дисциплины «Биологическая химия-биохимия полости рта» студентам начальных курсов стоматологического факультета медицинского университета// В сборнике: Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине. Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией А.В. Силина, Л.Б. Гайковой. СПб., Из-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2020. Т.2. С. 256-261
2. Жулькова Н. В. Роль и место ситуационных задач в современном уроке // Химия в школе. 2013. № 9. С. 45–48,12.
3. Иванова И.С., Пак М.С. Адаптивное обучение химии в современной школе: научно-практическое пособие. Санкт-Петербург: Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, 2008. 47 с.
4. Иванова И. С., Попов А.С. Опыт использования электронного обучения при организации самостоятельной работы студентов I курса медицинского вуза при изучении дисциплины «Общая химия, биоорганическая химия» // Инновации в образовании: Мат-лы X юбилейной региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием, посвященной 100-летию ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, 25 марта 2020 года. С. 196-200.
5. Иванова И.С., Попов А.С. Организация и мониторинг самостоятельной работы студентов по химии с использованием электронных средств обучения // Информационные технологии в современном инженерном образовании: материалы межвузовской научно-практической конференции, Петергоф, 15 апреля 2020 года. СПб.: Военный институт (ЖДВ и ВОСО), 2020. С. 97-101.

6. Ковтунова Т. И. Методические задачи в предметной подготовке учителя математики: дис. ... канд. пед. наук. Калуга, 2006. 214 с.

7. Малахова Т.Н. Инновации в инструментарии аккредитации выпускников медицинских вузов // Высшее образование сегодня. 2018. № 11. С. 19–23.

8. Найденышева И.Ю. Ситуационные задачи как средство оценивания в современной школе. <http://www.bssochi.ru/pic/f-397.pdf> (дата обращения: 20.09.2021).

9. Сизова Ж.М., Чельшкова М.Б., Малахова Т.Н., Князева С.А. Оценочный инструментарий, используемый при аккредитации специалистов здравоохранения // Медицинское образование и вузовская наука, 2019. № 1 (15). С. 6–10.

10. Степанова Н.П., Соколова Е.А. Использование ситуационных задач по химии при дистанционном обучении студентов I курса медицинского университета // Современное образование: содержание, технологии, качество. Материалы XXVII международной научно-практической конференции. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2021. С. 91–93.

УДК 372

Кабанов А.В.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Санкт-Петербург
alk979@yandex.ru

ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ ХИМИИ НА КУРСАХ ПОДГОТОВКИ К ЕДИНОМУ ГОСУДАРСТВЕННОМУ ЭКЗАМЕНУ

Эта работа посвящена особенностям преподавания химии на курсах подготовки к Единому Государственному Экзамену и тому, с какими учениками преподаватель как правило работает на этих курсах. Публикация представляет собой обобщение личного опыта автора.

Ключевые слова: преподавание химии, педагогика, подготовка абитуриентов.

THE PECULIARITIES OF TEACHING CHEMISTRY IN PREPARATION COURSES FOR THE UNIFIED STATE EXAM

This work is devoted to the peculiarities of teaching chemistry in preparation courses for the Unified State Exam and to what students the teacher usually works with in these courses. The publication is a summary of the author's personal experience.

Key words: teaching chemistry, pedagogy, preparation of applicants.

Целью этой работы является обобщение опыта работы на курсах подготовки к ЕГЭ по химии в медицинском вузе, что может позволить другим преподавателям избежать отдельных ошибок и упростить взаимодействие с обучающимися.

Подготовка абитуриентов к сдаче Единого Государственного Экзамена и дальнейшему поступлению является важной задачей в работе любого высшего учебного заведения. Особенно это касается тех кафедр, чей профиль близок к дисциплинам, по которым проводятся вступительные испытания либо результаты ЕГЭ, которые учитываются при поступлении в это учебное заведение. В СПбГПМУ на протяжении многих лет функционируют курсы подготовки к ЕГЭ по биологии, химии и русскому языку. Несколько лет проведения занятий по химии на этих курсах позволяют подвести некоторые итоги и сделать определённые выводы.

Опыт работы по подготовке иностранных абитуриентов уже был подробно описан коллегами ранее [1].

Основная масса обучающихся на курсах подготовки к ЕГЭ — это школьники, обладающие невысокими знаниями по химии, но желающими сдавать ЕГЭ по этой дисциплине. Другую категорию составляют недавние выпускники учреждений среднего профессионального образования, которые закончили школу три-четыре, а иногда и более лет назад и в значительной мере уже забыли школьную программу.

Из своего опыта автор может сделать вывод, что большинство учащихся на курсах не стремятся (несмотря на отсутствие каких-либо оценок) отвечать у доски, предположительно в связи с низким уровнем подготовки. В целом нельзя не отметить высокую степень замкнутости и стеснительности учащихся, приходящих на наши курсы в период обучения в старших классах общеобразовательной школы. Интересно, что часть учеников приходят на курсы, ещё

обучаясь в десятом классе, что вероятно связано с опасениями их родителей, что за один учебный год они не смогут в должной степени подготовиться к ЕГЭ. Небольшая часть школьников относятся к обучению на курсах без какого-либо интереса, так как родители навязывают им медицинское образование, к которому они не стремятся, в то время как большинство учатся сравнительно ответственно. В меру своих способностей, разумеется.

Обычно около одной трети контингента обучающихся составляют совершеннолетние лица, как правило, имеющие уже законченное среднее специальное образование (чаще медицинское), либо просто закончившие школу два-три и более лет назад и имеющие опыт той или иной работы. Такие учащиеся сравнительно серьезно относятся к учёбе. Тем не менее, некоторые из них думают, что на курсах подготовки к ЕГЭ им за одно-два занятия преподаватели откроют какие-то особые знания, которые помогут им получить высокие баллы без длительной самостоятельной подготовки и вообще каких-либо серьёзных усилий. Это всегда удивляет, так как никаких тайн в подготовке к экзаменам не существует.

Как правило, наилучшие знания учащиеся показывают по таким темам, как «Строение атома» и «Химическая связь», наихудшие — в отношении свойств отдельных групп элементов, особенно металлов, и в том, что касается кислородсодержащих и азотсодержащих соединений в органической химии. Также слабым местом многих абитуриентов является решение расчётных задач.

Если после объяснения основного материала и решения необходимых задач у преподавателя остаётся время, то его можно использовать для объяснения небольшого объёма материала, который пригодится будущим студентам на первом курсе в процессе изучения общей химии. Как правило, таким материалом является расчёт массы, массовой доли и молярной концентрации отдельного иона в растворах электролитов. Как правило, именно эта тема составляет определённую проблему для студентов первого курса.

При наличии возможностей и готовности со стороны учащихся курсов любых возрастных групп, их можно привлекать к участию в работе студенческого научного общества университета, включая выступление с докладами на конференции. Круг проблем, который охватывается СНО университета в своей работе, ранее освещался нами в работе [2].

Подводя итоги, нужно отметить, что аудитория на курсах подготовки к ЕГЭ как правило достаточно старательна и понимает необходимость учёбы, однако обычно стесняется любых ситуаций, где нужно проявить хотя бы небольшую инициативу. Кроме того, в

некоторых случаях встречается совершенно ложное представление, что само по себе участие в курсах без интенсивной личной работы абитуриента уже приводит к получению более высоких баллов.

Список литературы

1. Саркисян З.М., Шкутина И.В. Особенности преподавания химии иностранным слушателям подготовительного отделения// Наука России. цели и задачи. Сб. науч. тр. по материалам XX международной научной конференции. Екатеринбург, 2020. С.11-12.

2. Саркисян З.М., Шкутина И.В., Кабанов А.В. Актуальные научные проекты студентов в рамках студенческого научного общества Санкт-петербургского государственного педиатрического медицинского университета // Инновации в образовании. Материалы X юбилейной региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием, посвященной 100-летию ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. 2020. С. 370-373.

УДК 378

Кужаева А.А., Берлинский И.В.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский горный университет»

Санкт-Петербург

kaarlo@mail.ru, bgarris@yandex.ru

СОВРЕМЕННОЕ РАЗВИТИЕ ОБРАЗОВАНИЯ В НАУЧНОЙ СФЕРЕ

Современные подходы в образовании требуют формирование у обучающихся ключевых компетенций. Задачами современного образования являются внедрение в учебный процесс актуальных научных вопросов.

Ключевые слова: формирование компетенций, инновационное обучение.

Kuzhaeva A.A., Berlinskii I.V.

St. Petersburg Mining University

St. Petersburg

MODERN APPROACHES TO EDUCATION REQUIRE THE FORMATION OF KEY COMPETENCIES IN STUDENTS

The tasks of modern education are the introduction of topical scientific issues into the educational process.

Key words: formation of competencies, innovative training.

В последнее время в мире все чаще возникают вопросы о новых подходах в развитии энергетики и экологической безопасности. Традиционные энергетические ресурсы являются невозполнимыми

и в некоторых странах Европы почти иссякли. Альтернативные источники энергии, такие как преобразование солнечной энергии, энергии ветра, получение биотоплива и другие не в состоянии полностью заменить и стать важнейшим фактором в экономике и политике. Также экологическая безопасность требует пересмотра старых и развитие новых подходов к производству и потреблению энергии.

В настоящий момент мировая общественность особое внимание уделяет водородной энергетике, как ресурсу, который в будущем может кардинально изменить мировую экономику и экологическую безопасность.

Несмотря на большой потенциал водородной энергетике, существует ряд важных вопросов в развитии этой отрасли.

Для решения поставленных задач необходимо переосмыслить подготовку специалистов в высших учебных заведениях, а также переподготовку педагогических кадров.

Необходима разработка современных подходов в университетском образовании и требований к выпускнику университета. В образовательном процессе требуется формирование у обучающихся ключевых компетенций. Для формирования компетентного специалиста необходимо применять методы и технологии, развивающие, прежде всего, познавательную, коммуникативную и личностную активность обучающегося.

Ключевую роль в формировании компетенций, раскрывающие умения и навыки, имеет практическая подготовка, включающие лабораторные работы, практические занятия, учебные и производственные практики.

Создание учебных и научных центров, техническое оснащение лабораторий современным оборудованием позволяют развивать у обучающихся компетенции не только в рамках образовательной программы, но и способствует развитию интеллектуальной и практической деятельности будущих специалистов.

Многофункциональность современных научно-учебных лабораторий формирует у обучающегося умения и навыки: сравнивать, сопоставлять, анализировать, делать выводы, самостоятельно вести исследования.

Модернизация учебных лабораторий в научно-учебные позволяет не только проводить занятия для закрепления и усвоения пройденного материала, а также проведение научных исследований. Такой подход развивает у обучающихся воображение, пространственное мышление, креативность, внимание, создает ситуацию для включения, обучающегося в деятельность по активному

исследованию, преобразования учебной информации и развитие творческого потенциала.

Такой инновационный подход в образовании выстраивает учебный процесс как движение от социальных и общекультурных знаний и умений своей профессии к технологическим, дающим ему понимание способов и методов решения профессиональных задач. А от них к методологическим, позволяющим отслеживать динамику изменения качества своей профессиональной деятельности (от технологии к инновационному мышлению) [1-5].

Список литературы

1. Юффа А.Я. Проблемы и перспективы высшего химического образования / С.А. Паничев // Российский химический журнал. 2003. Т. XLVII. № 2. С. 93-99.

2. Делия В.П. Инновационное образование, формирующее инновационное мышление: монография / В. П. Делия. Балашиха: ИСЭПиМ, 2005. 223 с.

3. Малинин В.А. Парадигма образования в контексте общества знаний / В.А. Малинин // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2012. № 3 (1). С. 25-29.

4. Хуторской А.В. Теоретико-методологические основания инновационных процессов в образовании / А.В. Хуторской // Интернет-журнал «Эйдос». 2005. 26.03.

5. Шитов С.Б. Инновационное образование в формирующемся обществе знаний / С.Б. Шитов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Гуманитарные науки. 2009. № 4 (12). С. 35-41.

УДК 547 (075.8)

Лахвич Ф.Ф., Бурдашкина К.Г.

Белорусский государственный медицинский университет

Минск, Республика Беларусь

lakhvichtt@gmail.com, burdashkinakg@bsmu.by

РЕАЛИЗАЦИЯ ДИДАКТИЧЕСКИХ ПРИНЦИПОВ СОДЕРЖАНИЯ

КУРСА ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ НА ОСНОВЕ

ГРАФООРИЕНТИРОВАННОГО ПОДХОДА

На примере раздела «Оксо-соединения» в курсе органической химии была проведена количественная оценка соответствия элементов содержания системе частных и общих дидактических принципов с использованием теории графов. Методика включала в себя разделение каждой реакции на элементарные акты, построение

матричной базы данных и количественную оценку соответствия и ранжирование реакций.

Ключевые слова: частные и общие дидактические принципы, оксо-соединения, теория графов.

Lakhvich T., Burdashkina K.

Belarusian State Medical University
Minsk, Belarus

IMPLEMENTATION OF THE ORGANIC CHEMISTRY COURSE DIDACTIC PRINCIPLES BASED ON THE GRAPH-ORIENTED APPROACH

Graph theory based quantitative assessment of the correspondence of particular and general didactic principles system elements was carried out using the case of the section "Oxo-compounds" in the organic chemistry course. The methodology included the formal division of each reaction into elementary acts according to four criteria, the construction of a matrix database and quantitative correspondence and ranking of factors.

Key words: particular and general didactic principles, oxo-compounds, graph theory.

Введение. В настоящее время значительную роль в структурировании курсов дисциплин играет использование разнообразных образовательных технологий, однако отбору содержания основного учебного материала не уделяется достаточного внимания [1, 2]. При этом именно дидактически обоснованный отбор содержания является залогом конструирования эффективного курса дисциплины [3].

На наш взгляд, создание целостной системы отбора и структурирования содержания дисциплины на основе научно обоснованных дидактических принципов должно лежать в основе эффективного предметного обучения. И только после создания такой системы можно переходить к обсуждению контекстных аспектов преподавания, исходя из профильности обучения, социальной значимости дисциплины и пр. В классической дидактике подходящим для конструирования содержания любой академической дисциплины являются принципы научности, доступности, целостности содержания, ясности, систематичности и системности и др. [4].

Также необходимо отметить, что в большинстве случаев авторы курсов и эксперты проводят оценку реализации дидактических принципов на качественном уровне, что повышает степень субъективности при создании курса дисциплины.

Впервые количественные критерии отбора содержания учебного материала с использованием методов математического анализа предложил профессор А. Тылдсепп [5], успешно доказав эффективность при создании курса органической химии в средней школе. Однако данный подход был реализован только применительно двух дидактических принципов (компактности и системности) и для сравнения только двух учебных пособий.

Следовательно, разработка количественных критериев, которые позволяют оценить соответствие элементов содержания курса основным дидактическим принципам является актуальной и практически значимой задачей.

Целью исследования является разработка методики количественной оценки реализации более широкого перечня дидактических принципов, том числе применительно к конструированию курса органической химии, на основе оригинальной системы частнометодических принципов (ЧМП).

Материал и методы. При проведении исследования использовали методики контент-анализа, структурно-графической трансформации химических объектов, элементы матричного анализа и теории графов. В качестве объекта исследований были выбраны реакции раздела «Оксо-соединения» лекционного курса органической химии для студентов, обучающихся по специальности «Фармация».

Результаты и их обсуждение. В приведенной модели предложен вариант оригинальной частной подсистемы, которая включает принципы структурности, функциональности и механистичности [6]. Несмотря на иерархичность подсистем в модели переноса знаний науки в учебный курс существует прямая взаимосвязь между различными уровнями, и при разработке ЧМП, в ряде случаев учитываются вышестоящие уровни, минуя промежуточные (скорее их учет осуществляется опосредованно). Так при построении курса на основе ЧМП (структурность + функциональность + механистичность) можно выделить следующие взаимосвязи (рисунок 1).

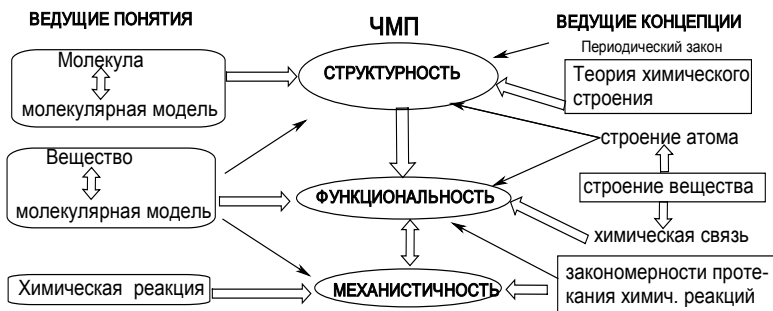


Рис. 1. Взаимосвязь ЧМП с ведущими понятиями и концепциями

Для микроструктурирования раздела «Оксо-соединения» [7] был проведен графоориентированный анализ взаимосвязей между компонентами курса (химические реакции), которые подлежат полному разложению на элементарные акты согласно четырем критериям [3]. Химические реакции рассматривались как совокупность элементарных актов присоединения (А) и отщепления (Е) с дополнением подтекстовыми индексами: “Е” и “N” – электрофила (-фуга) – нуклеофила (-фуга), “С” и “Н” – к/от атома углерода – гетероатома), “1” и “2” – к/от одинарной – кратной (двойной) связи.

Так, $A_{ЕН2}$ обозначает элементарный акт присоединения электрофила к гетероатому при двойной связи, а E_{NC1} – отщепление нуклеофила от атома углерода с разрывом одинарной связи. Замещение рассматривается как совокупность присоединения и отщепления (А+Е).

Химические реакции были представлены в виде ориентированного графа $G=(X, U)$, вершины которого $X=\{x_1, \dots, x_n\}$ представляют собой множество актов G – структурных элементов учебного материала (реакции), а $U=\{u_1, \dots, u_n\}$ – набор связей $u_a=(x_i, x_j)$ между элементарными актами в соответствующей химической реакции. Чтобы упростить анализ вводили матрицу смежности $A=(a_{ij})$ для

ориентированного графа G , где $i, j \in \{1, 2, \dots, n\}$, а элементы матрицы смежности определяются как наличие либо отсутствие связи между ними:

$$a_{ij} = \begin{cases} 1, & \text{если } (x_i, x_j) \in U \\ 0, & \text{если } (x_i, x_j) \notin U \end{cases}$$

Такой подход позволяет математически рассчитать параметры, которые характеризуют структуру и состав учебного материала, а именно каждый структурный элемент в отобранном контенте в от-

дельности, а также все содержание как единое целое. К параметрам, определяющим информативность и важность вклада элементарного акта в учебном разделе, относят число связей данного элементарного акта с другими актами, в матрице это число представляет сумму

элементов данного столбца: $S_j = \sum_{i=1}^n a_{ij}$. Число связей данного акта с другими, характеризующими через данный акт, — в матрице это число представляет сумму элементов данной строки

$$S_i = \sum_{j=1}^n a_{ij}$$

. Общее число связей данного структурного элемента рассчитывалось как сумма вкладов

$$S = S_j + S_i = \sum_{i=1}^n a_{ij} + \sum_{j=1}^n a_{ij} = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n a_{ij}$$

Реакции раздела «Оксо-соединения» были представлены в виде матрицы, структурные элементы которых представляют собой элементарные акты (стадий) реакций образования ацеталя, аминаля, имиона и енамина (табл. 1).

Таблица 1. Матрица элементарных актов реакций оксо-соединений

Акт	Реакции образования			
	Ацеталь	Аминаль	Енамин	Имин
A _{EH1}	1	1*	1*	1*
A _{EH2}	1	0	0	0
A _{NC1}	1	1	0	0
A _{NC2}	0	1	1	1
E _{EC1}	1	1	0	0
E _{EH1}	1	1	1	1
E _{EC2}	0	0	1	0
E _{EH2}	0	0	0	1
E _{NC1}	1	1	1	1

* Наличие связи с коэффициентом весомости 2.

При анализе матриц смежности для каждой реакции в отдельности в разделе «Оксо-соединения» были отобраны наиболее весомые элементарные акты, так для реакции ацетализации является стадия A_{NC1}. При образовании аминаля имеет такое же значимое значение A_{EH1}. Образование енамина и имиона имеют одинаковый набор всех значимых стадий.

В результате исследования нами впервые было проведено внутреннее микроструктурирование раздела «Оксо-соединения» курса «Органическая химия» на основе оригинальной системы частных-дидактических принципов; разработана методика количественной оценки реализации дидактических принципов компактности и предметности содержания на основе графоориентированного подхода и проведена количественная оценка соответствия отбора содержания раздела «Оксо-соединения» общим и частным дидактическим принципам.

Список литературы

1. Аршанский Е.Я. Культурологическая модель развития личности школьников при обучении химии. *Веснік адукацыі*, 2008, №1, с 7-18; №2, с. 8-17.
2. Töldsepp. A. Research and Development Work from the Perspective of Compiling Balanced Curricula for Science Education / A. Töldsepp, V. Toots // *Jornal of Baltic Science Education*. 2003. Vol. 2, No. 1, pp 5–11.
3. Лахвіч Т. Т. Прыватнадыдактычныя прынцыпы адбору зместу і канструявання курсу арганічнай хіміі: ад эпістэمالогіі катэгорыі да колькаснай ацэнкі канкрэтных крытэрыяў / Т.Т. Лахвіч, В.В. Вьюнік // *Актуальные проблемы химического образования в средней и высшей школе*. 2013. С. 198-202.
4. Пак М.С. Дидактика химии. М.: Владос, 2002.
5. Töldsepp. A. Journal of Baltic Science Education the mathematical and logical approaches to r&d work of compiling curricula for chemistry education / A. Töldsepp, // *Jornal of Baltic Science Education*. 2009. Vol. 8, No. 2, pp 120–129.
6. Лахвич Ф.Ф. Частнодидактические принципы конструирования и отбора содержания курса органической химии // *Біялогія і хімія*. 2009. N 5. с. 15–20.
7. Лекция по органической химии для студентов фармацевтического факультета по теме «Оксо-соединения», БГМУ. [Электронный ресурс]. Режим доступа к ресурсу: <http://etest.bsmu.by>.

Лаквич Ф.Ф., Рунейская О.Н.

Белорусский государственный медицинский университет
Минск, Беларусь
lakhvichtt@gmail.com

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ
ТЕХНОЛОГИИ РАЦИОНАЛЬНОГО ДРАГ-ДИЗАЙНА В ПРОЦЕССЕ
ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ**

Элементы рационального драг-дизайна использованы при изучении органической химии студентами фармацевтического факультета. Во время занятий и в рамках НИР проведен SAR-анализ как синтезированных ранее, так и смоделированных веществ. При сравнении результатов *in vitro* и *in silico* конструировались модели молекулярного докинга для скрининга веществ различных классов.

Ключевые слова: биологическая активность; драг-дизайн; молекулярный докинг; SR-исследование.

Lakhvich T.T., Ryneiskaya O.N.

Belarusian State Medical University
Minsk, Belarus

**PHARMACEUTICAL STUDENTS RESEARCH: TEACHING AND LEARNING
RATIONAL DRUG DESIGN**

University (mostly from School of Pharmacy) and High Scholl Students carried out the projects concerning the search and primary investigation of biological activity of organic substances as potential pharmaceutical drugs. Correlation between biological activity (both *in vitro* and *in silico*) and structure of both previously synthesized and modeled substance. Based on results analyzed molecular docking models for screening of substances of various classes.

Key words: SAR; drug design; molecular docking; student research.

В действующем образовательном Стандарте РБ для специальности 1 79 01 08 «Фармация» дисциплина «Органическая химия» относится к циклу естественнонаучных дисциплин. Это подчёркивает ее фундаментальность и системную роль при изучении не только химических, но и медико-биологических дисциплин. При этом организация обучения вне зависимости от отнесения к конкретному циклу должно отвечать ряду требований [1].

♦ Соответствие профессиональной направленности, что обеспечивает формирование знаний и навыков, соответствующих квалификации провизора.

♦ Формирование целостной системы химических знаний. При этом более высокий образовательный статус учебного заведения (университет по сравнению с колледжем при подготовке фармацевтов) предусматривает более фундаментальную подготовку даже по непрофессиональным дисциплинам.

♦ Изучение дисциплины на базе знаний, полученных на более низком уровне (школа, колледж) при формировании основы для обучения на более высоком уровне — в магистратуре, аспирантуре (т.н. вертикальные межуровневые связи).

♦ Осуществление межпредметных связей, включая межпредметные связи профессиональных и естественнонаучных дисциплин (горизонтальные внутриуровневые связи), с целью формирования целостной системы профессиональных и общенаучных знаний.

Учебный план определяет макроструктурирование учебного курса; при этом наполнение содержания дисциплины определяется также соответствием ряду общих методологических и методических [2], а также частных дидактических принципов [3].

Проблемно-ориентированное междисциплинарное обучение, философская основа которого была заложена философами-конструктивистами, характерно для университетов; лишь отдельные элементы такого подхода находят отражение в школьной практике. Систематическое использование исследовательской методики в учебном процессе способствует развитию навыков продуктивного и творческого мышления. Обучающе-исследовательский принцип (ОИП) обучения предусматривает такую организацию учебного процесса, при котором на каждом уровне обучения знания, навыки и умения приобретаются через овладение принципами научных исследований и непосредственное участие в исследовательской деятельности [4]. В этом случае адекватная организация учебного процесса позволяет использовать элементы ОИП не только в высшей, но и в средней школе. Ряд фундаментальных работ посвящен организации ОИП [5–7]. Также заслуживают внимания исследования по использованию исследовательских методик в обучении в рамках конкретных областей знаний, в частности студентов биомедицинских и естественных специальностей [8–7, 12].

Студенты вузов, выполняя дипломные и кандидатские диссертации, проводят «настоящие» исследования. Но чем ниже ступень образования, тем меньше степень реализации исследовательского компонента в процессе обучения. И только

непрерывное образование со схожими целями, процедурами и технологиями на каждом уровне обучения и карьеры создает идеальную среду для формирования индивидуальной адаптивной компетенции. Таким образом, внедрение подходов, используемых на более высоких уровнях образования (например, университетских технологий для старшей школы или исследовательских методологий при обучении студентов университетов), в практику более низкого уровня способствует психологической, социокультурной и профессиональной адаптации студентов на более поздних этапах обучения и жизнь. В этом контексте особую роль играют такие исследования, основной целью которых является обучение, и в которых соответствующие знания и навыки приобретаются через овладение принципами научного исследования. Конечно, они во многом отличаются от «настоящие» исследования, но использует его основные этапы и методологию. Название Student Research (SR) прижилось в английской литературе; Традиционно этот термин относится не только к университетам, но и к средней школе.

SR-исследование часто ошибочно сводят к проведению экспериментов во время лабораторных занятий. Но, во-первых, не каждый лабораторный эксперимент — это исследование. Во-вторых, SR-исследование должно соответствовать процедуре и технологии реального исследования и включать в себя постановку целей исследования, работу с литературой, планирование и проведение эксперимента, получение данных, их анализ и интерпретацию, обобщение и окончательное представление результатов (публикации, конференции и т.д.). Университеты, в отличие от средней школы, обеспечены оборудованием и ресурсами для проведения исследований. Но даже в университетах студенты ограничены во времени, поскольку они вовлечены в различные формы другой учебной деятельности в соответствии с учебной программой. Это делает идею «настоящего исследования» призрачной для большинства студентов. Для решения этой задачи педагог должен организовать для учащихся исследование таким образом, чтобы учесть все процедурные, психологические и дидактические аспекты учебного процесса [14]:

- использовать только отдельные элементы исследовательской технологии: чем выше ступень образования, тем ближе SR-исследование к реальному;
- эксперимент не обязательно должен быть абсолютно инновационным, ключевым является субъективная новизна исследования для студентов;
- проведение исследований преследует прежде всего образовательные и воспитательные, а не утилитарные цели

– моделирование, а не бездумная передача «реальной» проблемной ситуации научного исследования, с исключением дорогостоящих и нецелевых для учебного процесса элементов, дорогостоящего оборудования и материалов;

– учёт психофизиологическим характеристикам учащихся определенной возрастной группы.

Учебный процесс в медицинских вузах традиционно ориентирован на практику и включает только отдельные элементы исследовательской технологии. Мы внедрили элементы SR-исследований при работе со студентами 1-3 курсов фармацевтического факультета БГМУ до того, как они начали выполнять свои первые «настоящие» исследования в рамках курсовых и дипломных проектов. Педагогическая система включала введение в тематический план тем аудиторных занятий, посвященных моделированию и анализу структур, методическое обеспечение управляемой самостоятельной работы студентов, организацию НИР во внеучебное время и формирование работу со школьниками гимназии.

Студентам предложили ряд задач по поиску и первоначальной оценке биологической активности органических веществ (как потенциальных лекарств). Молекулярный докинг [10, 13] является ключевым элементом исследовательского проекта. Реализация проекта включает обзор литературы и анализ лекарственных средств (журналы, базы данных лекарств); выбор возможных субстратов (база данных PDB); разработка модели *in silico* (на основе данных о биологической активности ряда синтезированных веществ *in vitro*); молекулярный дизайн новых веществ-кандидатов (на основе изучения SAR и технологико-экономической оценки возможности синтеза), их активность в отношении субстратов выбранной модели. Результаты коррелировали с данными предыдущих исследований и были представлены на студенческих конференциях и в научных журналах. Показано, что SR-исследования мотивируют студентов к изучению профессионально ориентированных тем, формируют профессиональные компетенции в области фармацевтической химии и молекулярной биологии, а также облегчают выбор тем для дипломных и магистерских диссертаций. И конечно же, модели получились красивыми и полезными, что полностью соответствует концепции Beautility [14].

Для подготовки студентов для проведения исследований во внеучебное время, были внесены изменения в тематический план. Так, например, в лекциях расширен материал о роли малых

взаимодействий в афинности малых молекулы к рецептору. В план лабораторных занятий введены занятия по работе с программным пакетом Chem office, а также по конструированию моделей для проведения молекулярного докинга.

SR-исследования проводились также в средней школе. Были сформированы группы, состоящие из преподавателей и студентов университета, преподавателей и учащихся школы. В группе каждый участник выполняет разные роли. Например, учитель, с одной стороны, приобретает (роль ученика) новые знания, а с другой — профессионально направляет усилия учеников, используя их навыки в дидактике и социальном менеджменте. Студент, помимо своей обычной деятельности, управляет и обучает не только ученика, но также, в значительной степени, школьного учителя. Студенты чувствуют себя членами единой команды, они выполняют общий исследовательский проект. В таких группах мы наблюдаем настоящий обмен компетенциями, профессиональным и жизненным опытом.

Проведение НИР в совместных группах с участием преподавателей и студентов способствует социальной интеграции, формированию новых профессиональных и адаптивных компетенций у всех участников проекта. Студенты приобретают навыки и знания на университетском уровне, что способствует социальной адаптации в дальнейшем обучении. Студенты университета развивают свои навыки и знания, руководя учениками и их учителями. Это помогает адаптироваться к будущей профессиональной деятельности, требующей компетенций, позволяющих эффективно работать в команде. Учителя повышают профессиональные и социальные компетенции, работая не только со своими основными учениками, но и со студентами других возрастных групп, а также с коллегами.

Одно из самых кратких и емких определений научного исследования свидетельствует о нем как о «*systematic inquiry that is made public and exposed to collective criticism*» (Stenhouse, в [6], с. 120). Проведение НИР в учебном процессе соответствует этому определению: направленное на достижение учебных целей, способствует публичности деятельности студентов и формирует навыки систематической работы и критического мышления.

Список литературы

1. Лахвич Ф.Ф. Химическое образование для студентов биологических специальностей // Хімія: проблеми викладання. 2001. №2 С. 73-84.
2. Аршанский Е.Я., Чиркин А.А. Данченко Е.О. Концепция, методическое обеспечение и опыт подготовки студентов по специальности «Биология» и специализации «Биохимия» // Хімія: проблеми викладання. 2011. №9. С.3-10
3. Лахвич Ф.Ф. Частнодидактические принципы конструирования и отбора содержания курса органической химии // Хімія: проблеми викладання. 2009. №.5 С 15-20
4. Братенникова А.Н., Василевская Е.И., Лахвич Ф.Ф. Обучающе-исследовательский принцип как средство реализации преемственности при формировании адаптивных компетенций специалиста // Адаптация к профессиональной деятельности как психолого-педагогическая проблема: Мат. межд. конф. Барановичи: БГВПК, 2001. С. 29-33.
5. Peters M.J. The management of a student research project. Gower Publishing, Ltd., 2012.
6. Rudduck J., Hopkins D. Research as a Basis for Teaching: Readings from the work of Lawrence Stenhouse. London: Heinemann. 1985.
7. Strayhorn T.L. Theoretical frameworks in college student research. UPA, 2013.
8. Amgad M., Tsui M. Medical student research: an integrated mixed-methods systematic review and meta-analysis // PLoS 2015. 10 (6), e0127470.
9. Ballamingie P., Tudin S. Publishing graduate student research in geography: the fundamentals // Journal of Geography in Higher Education, 2010. 37(2). P. 304-314.
10. Ragno R., Esposito V. Teaching and Learning Computational Drug Design: Student Investigations of 3D Quantitative SAR through Web Applications // J. Chem. Educ. 2020. 97 (7). P. 1922–1930.
11. Slack M.K., Martin J. A systematic review of extramural presentations and publications from pharmacy student research programs // American Journal of pharmaceutical education, 2016. 80(6), 100.
12. Lakhvich T. Student Research: Acquiring Knowledge about the Nature and Process of Science // JBSE, 2017. 16 (6), p. 832-835
13. Kitchen D., Decornez H. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications // Nature Reviews Drug Discovery, 2004. 3(11), 935–949
14. Lakhvich T. Beautylity of chemistry visualization: Whether useful can be aesthetic // PEC, 2010. 19, 46-50.

Литвинова Т.Н., Литвинова М.Г.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Краснодар

ml_2000@inbox.ru

ОБУЧЕНИЕ ХИМИИ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА В УСЛОВИЯХ ОЧНО-ДИСТАНЦИОННОГО РЕЖИМА

В статье рассматриваются подходы, формы и методы образовательного процесса в Кубанском государственном медицинском университете при изучении дисциплины «Химия» в условиях очно-дистанционного режима, формы дистанционного обучения; компьютерно-опосредованные виды коммуникации.

Ключевые слова: медицинский вуз, дистанционное обучение, компьютерно-опосредованные виды коммуникации.

Litvinova T.N., Marina G.L.

FSBEI HE KubSMU of the Ministry of Health Care of Russia

Krasnodar

TRAINING THE STUDENTS OF MEDICAL UNIVERSITY IN CHEMISTRY UNDER THE CONDITIONS OF FULL-TIME MODE AND DISTANT LEARNING

The article is devoted to the approaches, forms and methods of the educational process at the Kuban State Medical University concerning the discipline "Chemistry" as well as the forms of distant learning and computer-mediated types of communication.

Key words: medical university, distant learning, computer-mediated types of communication.

Использование дистанционных технологий в медицинском образовании всегда имело больше противников, чем сторонников, так как базовое медицинское образование невозможно получить без непосредственного контакта студента с преподавателем в учебных аудиториях, с больными в клинике. Однако информационные технологии уже достаточно давно используются в учебном процессе [2, 9].

В настоящее время в системе профессионального образования, в том числе медицинского, дистанционное обучение стало весьма актуальным, что обусловлено и развитием компьютерных технологий, расширяющих способы коммуникации, и необходимостью

продолжения качественного обучения студентов в условиях пандемии или карантина.

Применение цифровых технологий на различных этапах подготовки врачей имеет свои особенности, поскольку многие навыки и умения не могут быть полноценно приобретены иначе, как на практических занятиях в традиционной, очной форме. Это относится и к формированию предметных химических компетенций как основы будущего профессионализма.

Возможности использования современных информационных и телекоммуникационных технологий (ИТКТ), предназначенных для передачи знаний на расстоянии активно обсуждается педагогическим сообществом [1, 3, 4, 7, 8].

С 2011 года идет активная модернизация медицинского образования и по мере изменения целей обучения, содержания и структуры курса химии меняется и методика его изучения. Нами широко используются интерактивные, в том числе, дистанционные методы обучения (ДО), активная визуализация учебного материала, сочетание виртуального и реального эксперимента [5, 6].

На сайте (www.ksma.ru) Кубанского государственного медицинского университета (КубГМУ) в разделе структура вуза на странице кафедры размещается информация об учебной, научной, лечебной работе кафедры, её история, а главное учебно-методические материалы для студентов и справочная информация об организации учебного процесса.

Портал дистанционного электронного обучения (рис. 1) является компонентом электронной информационно-образовательной среды вуза (собственный портал электронного обучения на платформе Moodle.ksma.ru), который предназначен для накопления, систематизации, хранения и использования электронных образовательных ресурсов. На портале предоставляется доступ авторизованным пользователям к учебным и методическим разработкам преподавателей кафедр. На этой базе реализуется система сетевого обеспечения студентов не только материалами для самоподготовки, а также тестами промежуточного и итогового контроля знаний. Это позволяет студентам работать с презентациями, видеолекциями как в онлайн-режиме, так повторно в удобное для них время, проходить промежуточные и итоговые тестирования. Для этого необходимо войти на сайт, используя личный логин и пароль, выбрать нужную дисциплину и получить доступ к учебным материалам, тестированию. На портале мы выкладываем календарные планы практических занятий и лекций, задания к каждому занятию, вопросы к кон-

трольной работе (защита модуля), экзаменационные вопросы, необходимы справочный материал.

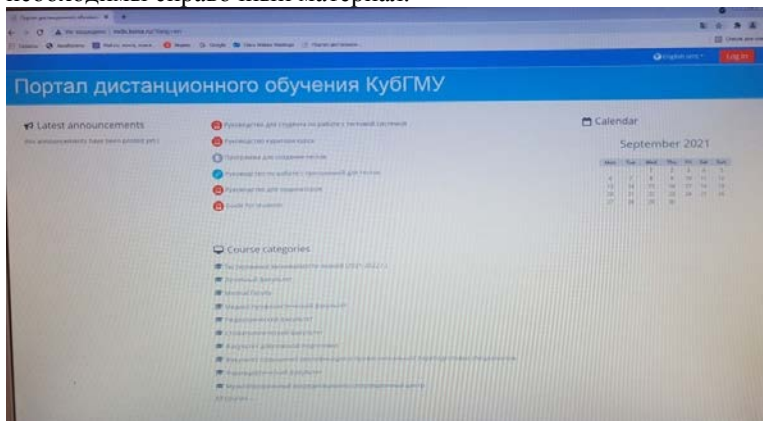


Рис. 1. Портал дистанционного обучения КубГМУ

На рис. 2 представлены примеры тестовых заданий по химии для текущего контроля, набранные в системе программ MyTestXPro (MytestEditor).

Основными методологическими подходами к отбору содержания, его структурированию, процессу обучения химии студентов медицинского вуза являются системно-деятельностный, интегративно-модульный и компетентностный, а методы, формы обучения варьируют в зависимости от внутренних и внешних факторов [5, 6].

В таблице приведены методы и формы обучения химии студентов КубГМУ в очно-дистанционном режиме.

Эффективным «помощником» преподавателей и студентов является электронная библиотека «Консультант студента» studmedlib.ru предоставляющая доступ через сеть Интернет (в том числе с использованием специальных программ) к электронным версиям учебной, научной литературы и дополнительным материалам по химии, а также автоматизированная интегрированная библиотечная система (АИБС) на платформе «МегаПро» lib.ksma.ru. Студентам достаточно быть авторизованным пользователем.

Приобретенный опыт смешанных, можно сказать, гибридных форм обучения позволяет сделать вывод, что режим очно-дистанционного необходим, причем не только в условиях пандемии, так как позволяет организовать связь синхронную и асинхронную «преподаватель ↔ студент», свободный доступ к учебным материалам. Электронный ресурс позволяет улучшить качество предоставления учебного материала, его визуализацию. Дистанци-

онное обучение способствует развитию навыков самостоятельной работы.

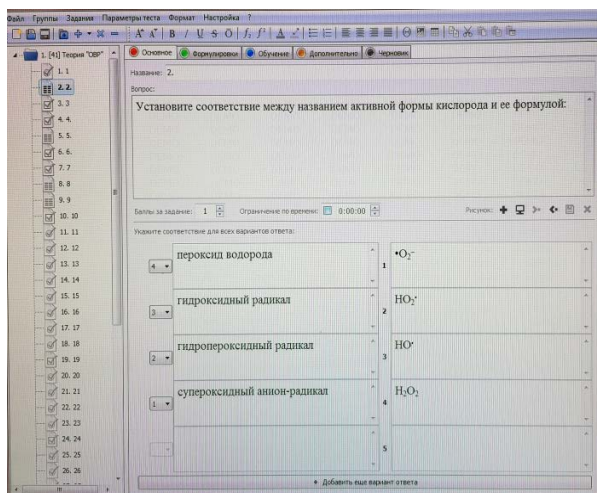
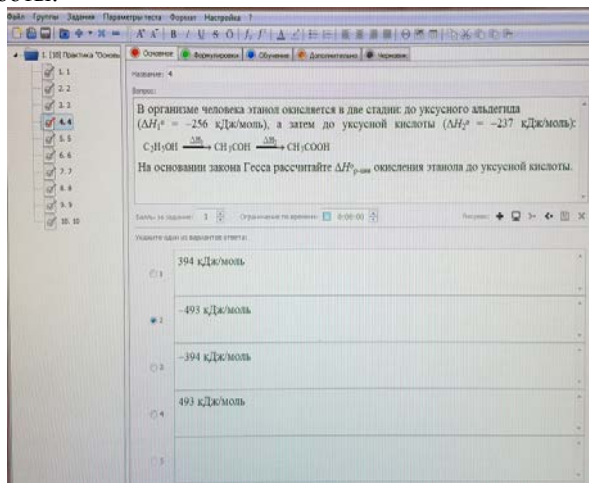


Рис. 2. Примеры тестовых заданий для текущего контроля

Главной проблемой дистанционной формы обучения, пока нерешенной, мы считаем невозможность проконтролировать самостоятельность выполнения тестирования, объективность полученных баллов. Вызывает сомнение существенное увеличение высоких результатов в сравнении с текущим контролем в очном режиме про-

шлых лет. Также во время дистанционных лекций пока затруднительно контролировать участие каждого студента в этом процессе.

Таблица. Формы и методы обучения химии студентов КубГМУ

Очное обучение	Дистанционное обучение
<p>Практические занятия</p> <p>Методы обучения: тренинговые, определяющие алгоритм решения типовых и ситуационных химических задач, имеющих практическую профессиональную ориентацию, проблемно-исследовательские, экспериментально-практические, химический эксперимент; семинары, дискуссии, «мозговой штурм», мини-конференции с заслушиванием сообщений студентов в сопровождении презентаций</p>	<p>Лекции, голосовое общение, визуализация (презентации, виртуальный эксперимент) на площадке CiscoWebexMeetings; визуализация лекций с использованием анимационных методов мультимедийного представления; иллюстративный материал в виде цветных оригинальных слайдов; справочный материал, включающий схемы и таблицы; дидактический дизайн, включающий многофункциональную визуализацию знаний; уплотнение, сгущение информации; рисуночное, цветное кодирование учебного материала</p>
<p>Защита модуля — контроль усвоения в виде письменных ответов на вопросы и устного собеседования.</p> <p>Итоговый контроль — экзамен: устная форма, ответы по билетам, собеседование</p>	<p>Текущий контроль — тестирование на портале (система компьютерного тестирования на базе MyTestXPro).</p> <p>Материал для тестирования состоит из двух частей: заданий по теории и вопросов практического характера, проверяющих умения применять знания, установлено ограничение по времени ответа</p>
<p>Консультации по модулю, дисциплине (текущие, экзаменационные) с соблюдением требований безопасного общения в условиях пандемии</p>	<p>Консультативная помощь преподавателя: обмен письменными сообщениями в синхронном и в асинхронном режиме, создание чатов (WhatsApp); электронная почта</p>
	<p>Различные платформы, используемые отдельными преподавателями химии для общения со студентами: Skype, Zoom, WhatsApp, Discord, YouTube</p>

Следует отметить, что для организации дистанционного обучения требуется современное техническое оснащение: компьютеры, сеть Интернет, коммутиационные устройства, офисная техника, программное обеспечение, «облачные» сервисы. Важно, чтобы все это оборудование и программное обеспечение работало бесперебойно.

Вместе с тем, в образовательном процессе очень важным является «живое общение», возможность выявления степени понимания студентом изучаемого материала, совместная деятельность преподавателя и студента, позволяющая формировать практические навыки у обучаемых, решать нестандартные задачи.

Таким образом, электронное обучение прочно вошло в учебный процесс, будет дальнейшее совершенствование этой формы обучения. В медицинском образовании необходимо найти оптимальное соотношение очной и дистанционной форм взаимодействия участников учебного процесса, особенно при изучении такой важной фундаментальной экспериментальной науки и дисциплины — химия.

Список литературы

1. Андреев А.А. Дистанционное обучение: сущность, технология, организация / А. А. Андреев, В. И. Солдаткин. М.: Изд-во МЭСИ, 2012. 43 с. ISBN577640164X
2. Белоконова Н.А. Опыт использования информационных технологий в процессе обучения на кафедре общей химии Уральского государственного медицинского университета / Н. А. Белоконова, Н. А. Наронова, С. А. Чемезов [и др.] // Педагогическое образование в России. 2017. № 9. С. 46-51. ISSN: 2079-8717. Текст непосредственный.
3. Копосова О.В. Опыт применения электронных образовательных ресурсов в обучении студентов медицинского университета / О. В. Копосова, Н. В. Литусов, С. А. Чемезов // Наука. Информатизация. Технологии. Образование: материалы XII Международной научно-практической конференции. 2019. С. 340-345. Текст непосредственный. URL: <http://conf.sfu-kras.ru/1015>
4. Касьяненко Е.Ф. Дистанционное и мобильное обучение в медицинских вузах: проблемы и перспективы / Е.Ф. Касьяненко, Л.Н. Рубцова, И.Д. Димов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 5. С. 18-22. DOI: Текст непосредственный.
5. Литвинова Т. Н. Эволюция химического образования в системе медицинского / Т. Н. Литвинова, М. Г. Литвинова / Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным

участием (3 декабря 2020 года) / Под ред. А. В. Силина, Л. Б. Гайковой. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова. 2020. Ч. 2. С. 275-281. Текст электронный.

6. Литвинова, Т. Н. Модернизация медицинского образования в России и место химических дисциплин в этом процессе / Т. Н. Литвинова, М. Г. Литвинова / Актуальные проблемы химического и экологического образования: сборник научных трудов 66 Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (18–19 апреля 2019 г.). СПб.: Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена, 2019. С. 189-195. Текст электронный.

7. Мельникова, Е. Д. Дистанционное обучение при изучении дисциплины «Медицинская химия» в медицинской академии Крымского федерального университета: содержание дисциплины, формы и методы обучения / Е. Д. Мельникова, Е. А. Сарнит, Е. Е. Нетреба / Современная химия основа устойчивого развития: сборник материалов научно-практической конференции / Под ред. профессора А. В. Великородова и доцента Э.Ф. Матвеевой. Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет, 2021. 186 с. Текст электронный.

8. Моисеева, Л. В. Эффективность дистанционной образовательной технологии изучения дисциплины «Экологическая химия» студентами медицинского вуза / Л. В. Моисеева, Н. А. Белоконова, Е. Ю. Ермишина [и др.] // Педагогическое образование в России. 2020. № 4. С. 121–128. DOI: 10.26170/ro20-04-15. Текст непосредственный.

9. Никуличева Н.В. Внедрение дистанционного обучения в учебный процесс образовательной организации: практическое пособие / Н. В. Никуличева. М.: Федеральный институт развития образования, 2016. 72 с. ISBN 978-5-85630-149-5. Текст непосредственный.

УДК 372.854:37.02:373.51

Лямин А.Н.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России

Киров

lyamin.lyaminchemistry2015@yandex.ru

ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ПОЗНАВАТЕЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ В ОБУЧЕНИИ СТУДЕНТОВ ХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

Статья посвящена актуальной проблеме оптимизации химического образования в медицинском университете посредством ис-

пользования в обучении студентов интегральных познавательных заданий химического содержания. Решение поставленной проблемы обусловлено ведущими идеями, отражёнными в Федеральном государственном образовательном стандарте высшего образования по медицинским специальностям и профессиональном стандарте "Врач-биохимик". В статье рассмотрена методика разработки и использования интегральных познавательных заданий на занятиях по химии как эффективного дидактического средства успешного освоения студентами курса химии и активной мотивации студентов к получению профессии в медицинском университете.

Ключевые слова: универсальная и общепрофессиональная компетенции, интегральные познавательные задания, стимуляционно-мотивирующая ситуация, универсальные учебные действия, интеграция естественнонаучных и гуманитарных знаний.

Lyamin A.N.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
"Kirov State Medical University" of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation, Kirov region, Kirov

INTEGRAL COGNITIVE TASKS IN THE TRAINING OF CHEMISTRY STUDENTS AT THE MEDICAL UNIVERSITY

The article is devoted to the topical problem of optimization of chemical education at a medical university through the use of integral cognitive tasks of chemical content in teaching students. The solution to this problem is due to the leading ideas reflected in the Federal State Educational Standard of Higher Education in Medical Specialties and the professional standard "Physician-biochemist". The article discusses the methodology for the development and use of integral cognitive tasks in chemistry classes as an effective didactic means of successful mastering by students of a chemistry course and active motivation of students to obtain a profession at a medical university.

Key words: universal and general professional competence, integral cognitive tasks, stimulation-motivating situation, universal educational actions, integration of natural science and humanitarian knowledge.

Неправильное знание хуже, чем незнание.

Адольф Дистервег

В настоящее время учёные-методисты (Т. Н. Литвинова, И. С. Иванова и др.) в организациях высшего профессионального образования медицинского направления отмечают у студентов низкий уровень мотивов изучения химии и, как следствие, затруднения

в изучении и неудовлетворительные результаты освоения курса химии. Студенты медицинских университетов не придают должного значения химии как фундаментальной основе изучения медицинских дисциплин и овладения будущей профессией врача, провизора, биохимика-аналитика и др.

К важнейшим видам формируемых у студентов учебных действий следует отнести: действия ценностной ориентации и мотивации; действия целеполагания; действия учебного труда и познания; действия планирования; действия отбора и моделирования содержания; действия конструктивного общения; действия контроля и самоконтроля; действия оценки и самооценки; действия рефлексии и саморефлексии; действия самообразования. Особое внимание следует уделять учебным действиям контроля и оценки. Заметим, что предметом контроля является не столько конечный результат деятельности, сколько способы его получения. Психологи В. В. Давыдов, Д. Б. Эльконин и др. рекомендуют учитывать упреждающий характер контроля, опирающегося на внутренний план действий и их рефлексиию. Положительная оценка учебных действий санкционирует переход к новым учебным задачам, отрицательная оценка действий побуждает вернуться к прежним задачам и их контролю.

Опыт преподавания химических дисциплин в организациях высшего профессионального образования показывает, что наиболее эффективным методическим средством решения обозначенной проблемы является создание в процессе обучения стимуляционно-мотивирующих ситуаций.

Стимуляционно-мотивирующая ситуация — сознательно вызванное высокоэмоциональное состояние, детерминирующее личностно-ценностные смыслы удовлетворения собственных желаний, потребностей, стремлений, направленные на достижение образовательных целей (см. схему 1).



Схема 1

«Особенно острую проблемность приобретает ситуация при обнаружении в ней противоречий. Наличие в проблемной ситуации противоречивых данных с необходимостью порождает процесс мышления, направленный на их «снятие» [1, с. 15]. В процессе осмысления противоречия у студентов актуализируются учебные действия по решению проблемы, которые являются результатом интеграции естественнонаучных и гуманитарных знаний и междисциплинарных умений. Эффект системного использования стимуляционно-мотивирующих ситуаций-противоречий в отличие от традиционного системно-логического обучения химии заключается в том, что в процессе учебной работы у студента естественным образом формируется проблема, а это, в свою очередь, ведёт к тому, что его внутренний мотив по решению возникшей проблемы совпадает с целью изучения химии, т.е. происходит сдвиг мотива на цель — процесс, характеризующийся тем, что изначальный мотив изменяется в ходе выполнения действия. Такое происходит, например, тогда, когда деятельность, которая нам не нравится вначале, постепенно начинает наполняться особым (иным) смыслом и в результате мы хотим заниматься этой деятельностью [2]. В условиях организации самостоятельного усвоения знаний по химии при реализации дистанционной формы обучения актуальным становится принцип адаптивности. Под принципом адаптивности в обучении химии понимают — приспособление процесса обучения к индивидуальным особенностям учащихся [3].

Стимуляционно-мотивирующие ситуации не являются типовыми в традиционном смысле этого слова, а представляют собой модель жизненной ситуации, в решении которой студенты видят смысл, получаемого образования. Методологическим основанием создания стимуляционно-мотивирующей ситуации является интегративно-гуманитарный подход — методологический подход с интегральной (объединяющей, системообразующей, синтезирующей) «призмой видения» образовательного процесса, в основе которого синтез разнородных компонентов на базе осознания ценностных смыслов.

Эффективными способами создания стимуляционно-мотивирующей ситуации по химии являются интегральные познавательные задания и интегративный химический эксперимент [4].

Под термином «Интегральное познавательное задание» мы понимаем учебное задание, предполагающее поиск новых системных знаний и способов, определяющих учебные действия; стимуляцию активного использования в учении интеграционных процессов

(связей, синтеза); воспитание ценностей и лично-значимых смыслов учения (интегральный стиль мышления).

Особенности интегральных познавательных заданий:

✓ конкретный жизненный сюжет, требующий использования системных естественнонаучных и гуманитарных знаний, междисциплинарных умений и учебных действий на которые нет явного указания;

✓ проблема, заключённая в скрытом виде, в ходе решения которой актуализируется учебная проблема, которая становится лично значимой;

✓ нестандартность и противоречивость ситуации по сути обеспечивает эффект новизны и актуальности изучаемого материала;

✓ опора на жизненный опыт, знания, мнения, предпочтения учащихся; минимизирует формализм знаний, порождаемый несопадением и разрывом между устойчивыми житейскими представлениями и научными знаниями;

✓ избыточные, недостающие, парадоксальные данные представленные в задании приводят к формированию у студентов интегративных умений;

✓ открытость задания не предполагает эталона «правильности», напротив, стимулирует нахождение множества вариантов решений, при этом подавляется мотив избегания неудачи и активизируется мотив достижения, что снимает психологический барьер студента при выдвижении гипотезы, хотя уровень сложности проблемы может быть достаточно высоким;

✓ вариативная форма представления информации (реальный эксперимент, рисунок, таблица, схема, диаграмма, график и т.д.) требует умений кодировать и декодировать информацию;

✓ указание (явное или неявное) на область и реальную возможность применения полученного знания обеспечивает индивидуально-ценностный смысл и внутренний мотив изучения химии и получения профессии.

Интегральные познавательные задания не решаются по готовым образцам, а стимулируют у студентов поиск новых решений, в которых нужны интуиция, расширение и углубление системных знаний, совершенствование междисциплинарных умений, развитие учебных действий.

Определённую трудность для преподавателя представляет сам процесс создания интегрального познавательного задания.

В психологическую структуру проблемной ситуации входят три компонента [5]:

1. Неизвестное, которое содержит явное или скрытое противоречие, рассматриваемое в качестве движущей силы процесса познания. Осознание противоречия порождает потребность в действии, т.е. формирует мотив.

2. Познавательная потребность, мотив деятельности по решению выявленного противоречия.

3. Интеллектуально-познавательные возможности студента, включающие творческие способности и жизненный опыт, и, чем выше познавательные возможности, тем больше информации и тем более общие отношения могут быть предоставлены ему в качестве неизвестного.

Первый компонент проблемной ситуации составляет её предметно-содержательную сторону, второй компонент составляет стимуляционно-мотивирующую направленность, а третий компонент выражает объективно-личностный аспект.

Приступая к разработке интегрального познавательного задания, в первую очередь педагогу необходимо определить учебные элементы (знания, умения, учебные действия), которые требуется формировать, развивать, закреплять или контролировать; затем, адекватно учебным элементами, нужно определить противоречия, основанные на:

- ✓ жизненных явлениях, требующих научно-теоретического объяснения;

- ✓ анализе жизненных явлений, приводящих учащихся в столкновение с прежними житейскими представлениями об этих явлениях;

- ✓ сравнении, сопоставлении и противопоставлении;

- ✓ ознакомлении учащихся с материалом, вызывающим удивление, поражающим своей необычностью;

- ✓ теоретически возможном способе решения учебной задачи, найденным учащимся на основе своих знаний, и невозможностью его практического осуществления;

- ✓ практически достигнутом результате, факте и недостаточностью только химических знаний для его теоретического обоснования;

- ✓ жизненном опыте учащихся, их бытовыми понятиями, представлениями и научными знаниями;

- ✓ доказательстве несостоятельности какого-либо предположения, идеи, вывода, гипотезы, проекта и т.п.;

- ✓ предположении существования какого-либо явления или закона, теории и др., расходящихся с полученными ранее знаниями;

✓ недостающих или избыточных данных для получения ответа;

далее, в зависимости от выбранных противоречий, нужно определить форму предъявления интегрального познавательного задания: текст, эксперимент, графика, видеосюжет и др., и, в соответствии с дидактическими принципами, продумать систему вопросов к заданию, которая позволяет выйти на заданную учебную проблему и, в результате рефлексии, задать новую стимуляционно-мотивирующую ситуацию.

Пример интегрального познавательного задания. Раствор Люголя готовят на специально отведённом для работы с красящими веществами рабочем месте. В мерном цилиндре отмеривают 50 мл воды очищенной. Отвешивают 1 г калия иодида и растворяют его в подставке в 1-2 мл воды очищенной, из предварительно отмеренных 50 мл. Отвешивают 0,5 г иода кристаллического и добавляют в подставку. После полного растворения иода в раствор добавляют оставшуюся воду и фильтруют через промытый горячей очищенной водой ватный тампон или стеклянный фильтр во флакон для отпуска.

— рассчитайте: массовую долю иода, молярную концентрацию иода, молярную концентрацию эквивалента иода, титр иода в растворе Люголя.

— с какой целью при готовке раствора Люголя используют иодид калия?

— в каких случаях в медицинской практике применяют раствор Люголя?



Рис. 1.

— для наружного применения раствор Люголя используют с глицерином в форме спрея (см. рис. 1); рассчитайте навески иода кристаллического и калия иодида, а также объёмы воды очищенной и 85% водного раствора пропан-1,2,3-триола для приготовления препарата;

— с какой целью в препарате «Люголь спрей» используют глицерин?



Рис. 2.

— составьте инструкцию по приготовлению лекарственного средства «Йод» составом: действующее вещество: иод — 5 г, вспомогательные вещества: калия иодид — 2 г, этанол 95% и вода очищенная — поровну до получения 100 мл препарата.

— в чём различие состава раствора Люголя и лекарственного средства «Йод»?

— в каких случаях в медицинской практике применяют лекарственное средство «Йод»?

Студентам можно предложить краткую памятку для выполнения интегральных познавательных заданий:

— внимательно ознакомьтесь с условием задачи; перефразируйте текст задания так, чтобы он был более Вам понятен, но не искажал смысл;

— запишите условие задания и требования в удобной для Вас форме (с помощью символов и условных обозначений, с помощью рисунков и т.д.);

— поставьте перед собой вопрос — зачем это задание Вам предложено; задайте себе как можно больше вопросов — «Почему? Зачем?»;

— составьте план действий по разрешению данной ситуации; для этого разбейте проблему на составляющие её компоненты и промежуточные задачи;

— мысленно воспроизведите в памяти случаи, напоминающие описание задания; проведите аналогии и попытайтесь использовать

прежний опыт в данной ситуации; используйте знания, приобретённые при изучении других дисциплин, почерпнутые из научно-популярной литературы, жизненного опыта, но имейте в виду, что прежний опыт не всегда приемлем в условиях, требующих новых знаний, и может привести к неправильным результатам;

— выдвигайте как можно больше всевозможных идей и гипотез по решению проблемы, игнорируя очевидно абсурдные, помните: не страшно выдвинуть неправильную гипотезу, обидно пропустить верную!

— определите параметры, которые Вам нужно найти в справочнике;

— составьте для решения необходимые уравнения реакций и выпишите нужные математические уравнения, если это необходимо, преобразуйте их;

— произведите все необходимые математические действия с заданной точностью; помните, что с наименованием единиц величин выполняются те же самые алгебраические операции; несоответствие наименования единицы найденной величины говорит о неправильности преобразований;

— сравнивайте (*оценивайте*) полученные результаты, выпадение значения свойства объекта из определённой закономерности указывает на его аномальное поведение, что может быть причиной возникшей проблемы и является ключом к её решению; проверьте полученное решение, используя справочный и/или фактический материал, или используя полученные результаты в новых условиях;

— постарайтесь из полученных данных вычленить и сформулировать новую проблемную ситуацию; человек, способный ставить и объяснять проблемы — это человек с творческим мышлением!

Процесс выполнения интегральных познавательных заданий требует интеллектуальных способностей и волевых усилий их использования, а разрешение проблемы является мощным мотивирующим фактором учения, воспитывает ценностно-смысловые отношения к образованию и вызывает положительные эмоции у студентов.

Список литературы

1. Рубинштейн С.Л. О мышлении и путях его исследования [Текст] / С. Л. Рубинштейн. М.: Педагогика, 1958. 147 с.
2. Леонтьев А.Н. Сдвиг мотива на цель. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [https://www.psychologos.ru/articles/view/sdvig-](https://www.psychologos.ru/articles/view/sdvig)

motiva-na-cel-a.n.-leontev — Психологос. Энциклопедия практической психологии. (Дата обращения: 20.06.2021).

3. Иванова И. С. Адаптивное обучение химии в современной школе: научно-практическое пособие. [Текст] / И. С. Иванова, М. С. Пак; Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена. Санкт-Петербург: Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, 2008. 47 с.

4. Лямин А. Н. Демонстрационный эксперимент на лекционных занятиях по химии в медицинском университете [Текст] / А. Н. Лямин // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине: Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 03 декабря 2020 года / Под редакцией А. В. Силина, Л. Б. Гайковой. Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, 2020. С. 281–289.

5. Матюшкин А. М. Проблемные ситуации в мышлении и обучении. [Текст] / А. М. Матюшкин. М.: Педагогика, 1972. 208 с.

Рисунки взяты из открытых источников:

<https://irecommend.ru/sites/default/files/imagecache/copyright1/user-images/776891/pm8rcbbohqdq7lygxrlgka.jpg>;

<https://www.aversi.ge/uploads/mating/a0658168ad5d25505f6a0a88baec5686.png>

УДК 37.013

Новик И.Р.¹, Воронина И.А.², Черепанов С.А.¹

¹ФГБОУ ВО «НГПУ им. К. Минина» (Мининский университет)

²МБОУ «Школа № 129»

Нижний Новгород

irmovik@mail.ru, voronina.nn@mail.ru,

cherepanovsa-nn@yandex.ru

РАННЯЯ ПРОФИЛИЗАЦИЯ КАК ПЕРВЫЙ ЭТАП ПОДГОТОВКИ КАДРОВ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ВУЗОВ И ФАКУЛЬТЕТОВ ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ПРОФИЛЯ

Ранняя профилизация обучающихся в ходе проведения профориентационных мероприятий естественнонаучной направленности необходима для более осознанного выбора соответствующего профиля дальнейшего обучения в условиях непрерывности и преемственности образования. Данная работа является первым этапом в

подготовке кадров для медицинского и естественнонаучного профилей подготовки.

Ключевые слова: ранняя профилизация, профориентационные мероприятия, выбор профиля дальнейшего образования.

Novik I.R.¹, Voronina I.A.², Cherepanov S.A.¹

¹Minin Nizhny Novgorod State Pedagogical University
(Minin University)

²School № 129

Nizhny Novgorod

EARLY PROFILING AS THE FIRST STAGE OF TRAINING FOR MEDICAL UNIVERSITIES AND FACULTIES OF THE NATURAL SCIENCES

Early profiling of pupils in the course of career guidance activities of a natural science orientation is necessary for a more informed choice of the appropriate profile of further education in the conditions of continuity and continuity of education. This work is the first stage in the training of personnel for medical and natural science training profiles.

Key words: early profiling, career guidance activities, choice of the profile of further education.

В современных нормативных документах, относящихся к сфере образования, большое внимание отводится социальному развитию личности, формированию личности инновационного типа, которая готова развиваться сама и активно включаться в процесс развития общества. Данная позиция отражена в Стратегии инновационного развития Российской Федерации на период до 2020 года. Сегодня государство ставит целью формирование личности, готовой к труду. В связи с этим у современных школьников необходимо развивать мотивацию к осознанному выбору будущей профессии.

Реформы, происходящие в отечественном образовании, заставляют всех участников образовательных отношений вносить существенные коррективы в организацию своей деятельности, подталкивая их к необходимости осуществления более раннего выбора направления дальнейшего обучения, поэтому своевременное проведение профориентационной работы с обучающимися в сложившихся условиях развития образовательного учреждения чрезвычайно необходимо. На данный момент в образовании школьников можно отметить достаточно положительных тенденций: разнообразие педагогических систем и подходов, возможность развития творческого начала, раскрытие индивидуальности каждого из обучаемых, помощь в построении их собственной траектории развития

через обучение по индивидуальному плану, объединение предметных и личностных результатов учащихся, когда и их родители становятся участниками проектирования образовательного процесса.

Под *профилизацией* нами понимается единство процессов дифференциации и индивидуализации обучения, создающее возможности для максимально более полного учета интересов, склонностей и способностей учащихся, приводящее к формированию профессионально-личностных качеств у обучающихся и стремлению к продолжению образования и получению современной профессии, востребованной личностью, обществом и государством.

Теоретико-методологические и методические тезисы современной концепции профильного обучения заложены, обоснованы и развиты в работах А.В. Баранникова, В.А. Болотова, В.И. Блинова, А.Г. Каспржака, А.А. Кузнецова, А.Г. Капустняка, И.И. Колисниченко, К.Г. Митрофанова, Т.Г. Новиковой, М.А. Пинской, А.А. Пинского, Е.Л. Рачевского, М.В. Рыжакова, С.В. Суматохина, В.М. Филиппова, И.Д. Фрумина, И.Д. Чечель и др.

Основные идеи организации введения предпрофильной подготовки и далее профильного обучения в системе общего образования рассмотрены в трудах В.И. Блинова, Е.В. Ворониной, С.С. Кравцова, А.М. Моисеева, Н.В. Немовой, А.А. Пинского, Н.Ф. Родичева, И.С. Сергеева, И.Д. Чечель, С.Н. Чистяковой и др.

Основу нашего исследования составляют *концептуальные подходы* к реализации идеи непрерывного образования в работах Е.Я. Аршанского, Б.С. Гершунского, Н.Н. Двудичанской, В.И. Загвязинского, Г.Н. Фадеева и др., теоретико-методологические подходы к осуществлению преемственности между обучением в средней и высшей школе А.В. Батаршева, А.В. Кострюкова, В.Э. Тамарина и др., труды по профориентации А.Д. Сазонова, Е.А. Климова, Н.Н. Захарова и др., методология компетентностного подхода в образовании В.А. Болотова, И.А. Зимней, О.В. Акуловой, Ю.Ю. Гавронской, Е.С. Заир-Бек, В.А. Козырева, С.А. Писаревой, Н.Ф. Радионовой, В.Ю. Сморгуновой, А.П. Тряпицыной.

На первый взгляд кажется, что найдено оптимальное решение для успешного развития стремительно изменяющегося сегодня общества через формирование принципиально нового портрета выпускника [1, 9]. Сегодня у каждой школы есть реальная возможность реорганизовать педагогический процесс таким образом, что каждый из учеников может смоделировать свою дорогу в профессию. Однако, каждый современный школьник, получая обилие информации из разнообразных источников, четко осознает, что до-

биться успеха на выбранном поприще может преимущественно тот, кто имеет необходимую профессиональную подготовку, обладает навыками психологии общения, способностью уметь адаптироваться к изменяющимся условиям труда, выдерживать жесткую конкуренцию при наличии безработицы.

Проблема выбора профессии появляется в тот период, когда школьник еще не имеет жизненного опыта для осознанного взвешивания всех за и против, не редко под давлением родительского взгляда на его будущее. Современный выпускник сталкивается с рутинерством нашего времени, где происходит резкая смена общественного «веса» ряда профессий, сомнениями в оценке их значимости. Важно понимать, что есть профессии, которые всё время меняются, но не столь подверженные всплескам моды и престижа, не теряющие своей актуальности на протяжении тысячелетий. Это профессии медицинского работника (медсестры, фельдшера, врача) и профессия Учителя. Это профессии, которые не преходящи и необходимы обществу на любом этапе его развития. Обучение им требует серьезной самоотдачи, самоподготовки, постоянного саморазвития. Результат — достаточно стабильная профессия, не столь подверженная колебаниям бурлящего, а порой штормящего «моря жизни».

Учитывая выше перечисленные теоретические аспекты, на основании соглашения о сотрудничестве от 5.11.2014 г. между участниками МБОУ СОШ № 129 г. Н. Новгорода (теперь МБОУ «Школа № 129») и ФГБОУ ВПО «НГПУ им. К. Минина» (теперь ФГБОУ ВО «НГПУ им. К. Минина») стороны в 2015–18 гг. разработали и успешно реализовали комплексную программу деятельности научно-образовательной экспериментальной площадки *«Современные методы организации внеклассной работы в средней школе, направленные на развитие индивидуальных качеств обучающихся»* [2], в 2018–21 гг. деятельность была продолжена в новом актуальном контексте экспериментальной площадки по теме *«Формирование профессиональной мотивации обучающихся в процессе естественной подготовки посредством проведения профориентационных мероприятий»* [4–8], научный руководитель площадок — к.пед.н., доцент кафедры биологии, химии и биолого-химического образования (БХиБХО) ФГБОУ ВО «НГПУ им. К. Минина» Новик Ирина Рафаиловна, что подтверждено рядом нормативных документов: договорами об экспериментальной деятельности, о сетевом сотрудничестве, о прохождении педпрактики студентов, а также выступлениями на конференциях разного уровня, промежуточными и итоговыми отчетами. В настоящее время решено продолжить

работу в 2021–2024 гг. в рамках темы: *«Использование профориентационных естественнонаучных мероприятий для ранней профилизации школьников»*, которая предполагает дальнейшую совместную работу сторон по следующим направлениям [3, 9, 10]:

- *повышение профессиональной подготовки коллектива школы*: обучение персонала МБОУ «Школа № 129» на мастер-классах и семинарах, индивидуальные консультации с преподавателями кафедры, способствующие обеспечению ранней профилизации школьников;

- *рост опыта профессиональной деятельности и повышение профмотивации у студентов бакалавриата и магистратуры, задействованных в проведении профмероприятий для школьников и подготовке предметно-методических материалов для них, размещаемых на сайте школы [11];*

- *усиление профессиональной мотивации школьников в области естественных наук, способствующее их ранней профилизации*: активное участие старшеклассников МБОУ «Школа № 129» в мероприятиях, проводимых на базе школы и кафедры БХиБХО (занятиях по программам дополнительного образования (ПДО) биологических кружков «Региональное научное сообщество юных естествоиспытателей», химических кружков «Юный Менделеев» (8–9 класс) и «Практикум по органической химии» (10–11 класс), занятий ПДО «Мир, в котором мы живём» для учащихся 5–7 класса, занятий ПДО «Человек и его здоровье» для учащихся 8–9 классов, мастер-классах и экскурсиях, биолого-химических весенних и осенних каникулярных и естественнонаучных школах, факультетских олимпиадах по секциям «Биология» и «Химия», днях открытых дверей, занятиях научного общества учащихся по биологии и по химии), ранняя профилизация учащихся в области естественнонаучного образования.

В рамках научно-исследовательской работы на экспериментальной площадке в МБОУ «Школа №129» г. Н. Новгорода планируется апробация нового пилотного предпрофильного кружка для обучающихся 1-7 классов «Химия для любознательных». Программа разработана на 36 часов, практикоориентированные занятия проводятся 1 раз в неделю в течение всего учебного года. Отдельные занятия («Краски на основе солей железа», «Чистые вещества и смеси. Разделение смесей в быту», «Опасности в быту», «Газы» и др.) уже были апробированы ранее в рамках лабораторных практикумов, мастер-классов и дней науки, проводимых как на базе кафедры БХиБХО Мининского университета, так и на базе школы. Ряд используемых дополнительных материалов к данному курсу был под-

готовлен студентами Мининского университета. Например, очень понравившиеся ученикам начальной школы и их родителям профориентационные фильмы цикла «Химия в профессиях», специально снятые выпускницей магистерской программы Мининского университета «Инновации в химическом образовании» Шапошниковой Алиной Юрьевной [11]. Цикл включает три фильма: «Химия в медицине», «Косметическая химия», «Химия в пищевой промышленности». Просто, ярко и наглядно младшим школьникам рассказывают о применении различных химических веществ в разных профессиях, о роли химии в быту, промышленности и сельском хозяйстве, фильмы осторожно подводят обучающихся к мысли, что современная привычная и удобная жизнь уже не возможна без ежедневного постоянного применения знаний о веществах, явлениях и превращениях веществ, окружающих нас в повседневной жизни.

Нами планируется сравнить классы в «параллелях» и «вертикалях» на предмет эффективного освоения тем нового химического пропедевтического кружка, выбрать наиболее оптимальные технологии, формы и методы его проведения для обучающихся в соответствии с их возрастными и индивидуальными особенностями. Деятельность профориентационного кружка «Химия для любознательных» плавно продолжится на занятиях, ставших традиционными для кафедры БХиБХО кружков «Юный Менделеев» для обучающихся 8–9 классов и «Практикум по органической химии» для учащихся 10–11 классов. Кроме того, для девятиклассников с 2017–18 г. проводится профориентационная программа «Химия в моей будущей профессии» [3].

Результаты экспериментальной деятельности постоянно транслируются на школьных и районных методических объединениях учителей (ШМО, РМО) в рамках работы ассоциации учителей химии Нижегородской области и на конференциях разного уровня, в ближайшее время они будут тиражироваться в виде обучающих семинаров (вебинаров) по проведению профориентационных мероприятий естественнонаучной направленности для обучающихся разного возраста, мастер-классов и педагогических мастерских, представляющих инновационные подходы к организации эффективной профориентационной работы со школьниками, в форме статей и методических рекомендаций, раскрывающих инновационный опыт ранней профиликации обучающихся. Кроме того, на сайте МБОУ «Школа №129» г. Н. Новгорода в разделе «Сетевое взаимодействие», наряду с постоянно обновляемыми химическими и биологическими материалами для школьников [6, 11], скомпонованными для обучающихся всех возрастных групп, с 1-го по 11-й

класс, скоро появятся методические материалы для педагогов и студентов, позволяющие сделать учебно-воспитательный процесс более творческим, запоминающимся, мотивирующим учеников к дальнейшему обучению в рамках естественнонаучного и медицинского профилей.

Список литературы

1.Беляева Т.К., Новик И.Р., Воронина И.А. Использование групповых и индивидуальных образовательных маршрутов в работе с одаренными учащимися // Проблемы современного педагогического образования. Сер.: Педагогика и психология. Сб. науч. трудов: Ялта: РИО ГПА, 2018. Вып. 58. Ч. 2 С. 33–37.

2.Воронина И.А., Новик И.Р. Об организации научно-образовательной экспериментальной площадки «Современные методы организации внеклассной работы в средней школе» // Актуальные проблемы химического и экологического образования: Сборник научных трудов 62 Всероссийской научно-практической конференции химиков с международным участием, г. Санкт-Петербург, 15–18 апреля 2015 года. СПб.: Изд-во РГПУ им. А.И. Герцена, 2015. С. 169–171.

3.Воронина И.А., Новик И.Р., Мичурина А.С. О профориентационной программе «Химия в моей будущей профессии» для девятиклассников // Проблемы современного педагогического образования. Сер.: Педагогика и психология. Сб. науч. трудов: Ялта: РИО ГПА, 2018. Вып. 59 Ч. 3 С. 191-194.

4. Железнова Е.Н., Новик И.Р. Об исследовании мотивации обучающихся к изучению химии // Сб. материалов V Региональной научно-практической конференции «Инновационная деятельность в образовании» (30 ноября 2018 г.). Н. Новгород: НГПУ им. К. Минина, 2018. С. 53–55.

5.Новик И.Р., Беляева Т.К., Рузанова Ю.В. Развитие профмотивации обучающихся с помощью реализации индивидуальных образовательных маршрутов // Проблемы современного педагогического образования. Сер.: Педагогика и психология. Сб. науч. трудов: Ялта: РИО ГПА, 2018. Вып. 60. Ч. 2 С. 260–263.

6.Новик И.Р., Воронина И.А., Жадаев А.Ю. Развитие мотивации к изучению естественнонаучных дисциплин у учащихся начальной школы с использованием сетевого партнерства // Инновационные идеи и методические решения в преподавании естественных наук: материалы X Всероссийской научно-методической конференции, посвящённой 75-летию Победы в Великой Отечественной войне (6-12 января 2020 года). Иваново: Институт развития образования Ивановской области, 2020. С. 77–78.

7.Новик И.Р., Воронина И.А., Железнова Е.Н. Формирование профмотивации обучающихся с использованием сетевого сотрудничества школы и университета // Проблемы современного педагогического образования. Сер.: Педагогика и психология. Сб. науч. трудов: Ялта: РИО ГПА, 2018. Вып. 61. Ч. 1. С. 230–233.

8.Новик И.Р., Воронина И.А., Прудникова Т.С., Глазкова Н.В. О результатах реализации программ дополнительного образования с использованием сетевого сотрудничества школ и педагогического вуза // Актуальные вопросы и инновации в химии, биологии, экологии, аграрных науках и естественнонаучном образовании: II Всероссийская научно-практическая конференция. Н. Новгород: Мининский университет, 2019. С. 79-86.

9.Новик И.Р., Жадаев А.Ю., Волкова Е.А. Роль профориентации в условиях непрерывности и преемственности образования // Проблемы современного педагогического образования. Сер.: Педагогика и психология. Научный журнал: Ялта: РИО ГПА, 2017. Вып. 54. Ч. 4. С. 104-110.

10.Новик И.Р., Жадаев А.Ю., Воронина И.А., Савина О.А., Сидорова А.В. Формирование у студентов педагогического вуза профессиональной компетентности во время работы с одаренными учащимися Нижегородской области // Современные наукоемкие технологии. 2015. №12. Выпуск 5. С. 914-918.

11.<http://shkola129>.

УДК 37.013

Новик И.Р.¹, Пиманова Н.А.¹, Жадаев А.Ю.², Кукаев Н.А.³

¹ФГБОУ ВО «НГПУ им. К. Минина» (Мининский университет)

²Институт пищевых технологий и дизайна — филиал ГБОУ ВО «Нижегородский государственный инженерно-экономический университет»

³МБОУ «Школа № 60»

Нижегород

irnovik@mail.ru, chem-vsem@yandex.ru,

jadaew2010@yandex.ru, dominick.nk@gmail.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ «ПЕРЕВЕРНУТЫЙ КЛАСС» В ПРЕПОДАВАНИИ ХИМИЧЕСКИХ ДИСЦИПЛИН НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ ПОЛУЧЕНИЯ НЕПРЕРЫВНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

В условиях непрерывного образования особую актуальность приобретает использование технологии «Перевернутый класс» на занятиях по ряду химических дисциплин (общей, неорганической,

органической, аналитической и биологической химии). Показано, что использование данной технологии способствует обеспечению непрерывности и преемственности образования.

Ключевые слова: технология «Перевернутый класс», химические дисциплины, непрерывность и преемственность образования.

Novik I.R.¹, Pimanova N.A.¹, Zhadaev A.Yu.², Kukaev N.A.³

¹Minin Nizhny Novgorod State Pedagogical University
(Minin University)

²Institute of food technologies and design — branch of the Nizhny
Novgorod state university of engineering and economics

³School № 60
Nizhny Novgorod

THE USE OF THE TECHNOLOGY "FLIPPED CLASS" IN THE TEACHING OF CHEMICAL DISCIPLINES AT DIFFERENT LEVELS OF CONTINUING EDUCATION

In the conditions of continuous education, the use of the “Flipped class” technology in the classroom in a number of chemical disciplines (general, inorganic, organic, analytical and biological chemistry) becomes particularly relevant. It is shown that the use of this technology contributes to ensuring lifelong of education and continuity that bridges the generations.

Key words: «flipped class», chemical disciplines, lifelong of education, continuity.

Тенденции развития современного образования, в том числе: индивидуализация обучения, онлайн и офлайн обучение, смешанное обучение, «перевернутый класс»; геймификация и др. и его бурная постоянная модернизация обуславливают далеко не праздный вопрос: «Возможно ли учить «сегодня» также, как нас самих обучали «вчера»?»

Действительно, если взять, к примеру, уроки-лекции, считающиеся ранее ведущим видом учебной деятельности как вуза, так и старшего звена школы, то в настоящее время они не являются настолько эффективным методом обучения, а лишь его отправной точкой, в то время как главным становится результат — освоение школьниками необходимых групп (познавательных, регулятивных, коммуникативных и, конечно, личностных) универсальных учебных действий (УУД), а студентами — компетенций, прописанных в ФГОС, ОПОП, программах модулей и отдельных дисциплин. Достижение образовательных результатов — главная цель образова-

тельного процесса любой организации сферы образования на сегодняшний день. Поэтому особое внимание уделяется самостоятельной познавательной деятельности обучающегося с использованием электронных образовательных ресурсов (ЭОР), возможностей сети Интернет, а зачастую и цифровых лабораторий, открывающих перед учащимися новые знания [1–5, 7–10]. В связи с этим особую актуальность приобретают разные сервисы и программы глобальной сети, позволяющие педагогам разрабатывать оригинальные задания, как обучающие, так и проверяющие знания, для формирования отвечающей требованиям времени интерактивной образовательной среды.

Смешение традиционной со времен Я.А. Коменского классно-урочной системы и современных средств обучения довольно удачно происходит в модели «Перевернутого класса», предложенной передовыми американскими учителями химии Аароном Самсом и Джонатаном Бергманном, в которой кардинально меняется сам процесс обучения [11, 12]. Грамотное использование данной модели способствует реализации личностно-ориентированного, системно-деятельностного и компетентностного подходов, являющихся на сегодняшний день приоритетными как в основном общем, полном общем, так и в вузовском образовании.

Модель «Перевернутый класс», которая описана в статьях американских учителей Аарона Самса и Джонатана Бергманна [5, 10, 11, 12], оптимально подходит для работы с электронными образовательными ресурсами (ЭОР), позволяющие участникам образовательного процесса перенести в домашнюю обстановку знакомство обучающихся с новым теоретическим материалом и его первоначальное осмысление. На помощь обучающимся приходит не только учебник, но и различные обучающие видеоролики, онлайн-тесты, обучающие сайты, рекомендованные, а в ряде случаев и подготовленные, самим учителем. Данная модель также позволяет обучающемуся, находящемуся дома, в удобное для себя время самостоятельно, в оптимальном для него индивидуальном темпе, заниматься с разнообразными источниками информации (учебник, видео-урок, краткий конспект, таблица или кластер, ответы на вопросы по видеоролику, составление вопросов по новому материалу и пр.). Также по желанию ученик может пройти онлайн-тестирование, установив свой текущий уровень усвоения предлагаемого учителем учебного материала.

Безусловно, самым сложным моментом в применении данной технологии является «болезненный» для многих обучающихся переход от традиционной к инновационной модели обучения.

Разработанные в соответствии с требованиями последних ФГОС для основной и полной средней школы активные обучающие задания стимулируют учеников к «бурной деятельности» на занятиях, к приложению серьезных усилий для освоения программы на уроках в классе, обязывают основательно выучить материал разбираемых тем. Как говорил еще Конфуций, «если хочешь накормить человека один раз, просто дай ему готовую рыбу, если хочешь, чтобы он был сытым всю жизнь, научи его ее ловить». В этой связи нельзя не отметить негативную реакцию ряда родителей на применение технологии «Перевернутый класс» в школах. Не каждому из них хватает образованности, такта и житейской мудрости, чтобы понять, насколько в современном безумно быстро меняющемся мире важно обучить их детей самостоятельно «ловить, разделять и готовить рыбу», а не просто «потреблять готовую» по системе «ешь, что дали». Конечно, внедрение различных новшеств в учебный процесс требует со стороны учителей определенных компетенций и стараний. Однако, как показывают многочисленные исследования ученых-педагогов, приложенные усилия смогут упростить работу учителей из года в год по предмету, поскольку все наработки возможно будет использовать в учебном процессе [3-5, 6, 10-12].

Итак, дома обучающиеся самостоятельно знакомятся с объемным теоретическим материалом, а на уроке задают вопросы и выполняют задания на закрепление (индивидуально, либо совместно с коллегами по группе (классу) и под наблюдением педагога). Среди наиболее популярных форм аудиторной работы в предложенной модели является выполнение различных разноуровневых заданий и решение задач и упражнений, работа с кейсами, ведение дискуссии, подготовка и презентация мини-проектов. Следовательно, на уроке делается акцент не только на знакомстве и изучении теоретического материала по той или иной теме, но и на практическую ее составляющую.

«Перевернутое обучение» значительно трансформирует роли учителя и ученика. Педагог не «транслирует» готовые знания, а лишь создает условия для самостоятельного приобретения их учащимися в ходе выполнения оригинальных заданий и упражнений по химии под его умелым руководством, помогающим развить их склонности и творческие способности [6].

Алгоритм реализации технологии «Перевернутого класса» включает в себя следующее [7-9].

1. Подготовка учителем соответствующей виртуальной образовательной среды (видео-уроков, презентаций, дидактических мате-

риалов, выбор электронного сервиса для обратной связи с учениками) для обучения учащихся в классе и дома.

Школьные учителя раньше часто пользовались сервисами сайтов infourok.ru, dnevnik.ru, школ, где работают, прикрепляя туда свои «странички». В качестве примера приведем страницу учителя химии и биологии МБОУ «Школа № 60» г. Н. Новгорода Кукаева Николая Алексеевича [14] и страницу «Сетевое взаимодействие» кафедры биологии, химии и биолого-химического образования (БХиБХО) Мининского университета на сайте МБОУ «Школа №129» г. Н. Новгорода [13].

В настоящее время многие из учителей, в том числе и Николай Алексеевич, имеют самостоятельные сайты на wix.com [15], позволяющие размещать там большой объем информации, четко ее структурировать и грамотно дозировать для определенных возрастных групп Интернет-пользователей.

В отличие от школьных учителей, преподаватели вуза имеют большую возможность создания электронных учебно-методических курсов (ЭУМК) в СДО Moodle своего учебного заведения [16–18]. Каждый электронный курс содержит специально выделенный инструкционный блок, содержательный блок, разделенный на разделы или темы, по которым ведется освоение материала, информационно-справочные материалы и контрольно-оценочный блок. ЭУМК позволяет преподавателю организовать эффективное обучение как в очном формате с электронной поддержкой, так и в смешанном, а также в полностью дистанционном виде. Четкое и грамотное распределение материалов по блокам способствует логичности, структурированности и правильности усвоения материалов курса. Наличие глоссария, электронных учебников и учебно-методических пособий, презентаций, видеороликов, видеофильмов и других дополнительных материалов позволяет студентам самостоятельно полноценно и качественно изучить какую-либо тему, заданную преподавателем.

2. Организация учебной деятельности: определение учителем компетенций по данной теме, форм работы с учениками на уроке, подготовка заданий для классной работы. В ходе совместной работы происходит закрепление (рефлексия) и повторение материала темы.

3. Текущая и итоговая оценка знаний и компетенций учеников. Совместно с учащимися выбирается несколько форм итоговой работы (например, рубежный и итоговый тесты, контрольная работа, снятие видео, подготовка презентации с докладом или без него, защита проекта).

На этапе реализации авторами был совместно разработан следующий план проведения «Перевернутого урока» по химическим дисциплинам:

1. Дома учащиеся просматривают презентации учителя или видео-уроки, дополнительные материалы, отвечают на вопросы, проверяют собственные знания. Если возникают вопросы, обучающиеся связываются с учителем или записывают вопросы в тетради, чтобы задать их педагогу на очной встрече.

2. На занятии (уроке) как раз разъясняются вопросы по домашнему заданию, отрабатывается новый материал в виде решения упражнений, идет заполнение рабочих листов, таблиц, кластеров, рисуется фишбоун [5, 7–9].

3. Затем ученики могут работать всем классом, а могут делиться на мини-группы по 2–4 человека по уровню подготовленности. Выдаваемое каждой группе задание содержит инструкцию с описанием направления поиска, при этом обучающиеся могут пользоваться разными источниками информации. Важно отметить, что на таких занятиях школьники и студенты могут практически постоянно пользоваться своими сотовыми телефонами, осуществляя поиск ответов на свои задания в Интернете. В этом случае смартфон или айфон, воспринимаемый многими учителями как «нарушитель учебно-воспитательного процесса», из «врага» превращается в «помощника» и «друга».

4. Во время выполнения классных заданий учащиеся могут ментально получить консультацию учителя по возникающим вопросам.

После окончания работы заслушиваются и обсуждаются ответы каждой работающей группы учащихся, в случае нехватки времени работы сдаются ими в письменном виде.

Технология «перевернутого класса» позволяет во многом решить *проблемы, которые невозможно или трудно решить в рамках традиционного урока*, а именно, нацеленность обучающихся на зазубривание учебного материала; ограниченное использование в качестве средств обучения смартфонов, планшетов, ноутбуков. В результате на традиционном уроке довольно трудно достичь высокого уровня овладения учащимися материалом, что вполне реально при «перевернутом обучении».

Список литературы

1. Кукаев Н.А., Новик И.Р. Использование ЭОР при изучении естественнонаучных дисциплин учащимися: сб. Орфановские чтения. Н. Новгород: Мининский университет, 2015. С.163-167.
2. Кукаев Н.А., Новик И.Р. О подготовке открытого урока по химии с использованием ЭОР для учащихся 9 класса в соответствии с требованиями ФГОС: сб. научных трудов 63 Всероссийской научно-практической конференции химиков с международным участием «Актуальные проблемы химического и экологического образования». СПб.: РГПУ им. Герцена, 2016. С. 116-121.
3. Кукаев Н.А., Новик И.Р., Жадаев А.Ю. ЭОР как средство инновационной подготовки бакалавра // Модернизация педагогического образования в контексте глобальной образовательной повестки: сборник статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции. Н. Новгород: Мининский университет, 2015. С. 355–360.
4. Новик И.Р., Жадаев А.Ю., Кукаев Н.А., Леонова И.В. Индивидуализация и дифференциация обучения химии с применением ЭОР как элемент непрерывного образования // «Педагог 3.0: подготовка учителя для школы будущего»: сборник статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции. Н. Новгород: НГПУ им. К. Минина, 2016. С. 260–265.
5. Новик И.Р., Погадаева Т.А., Кукаев Н.А. ЭОР и их использование на уроках химии в средней школе: учебно-методическое пособие. Н. Новгород: Мининский университет, 2018. 82 с.
6. Новик И.Р. Подготовка компетентного специалиста в системе высшего химико-педагогического образования для работы с одарёнными учащимися: монография. Н. Новгород: НГПУ им. К. Минина, 2013. 158 с.
7. Погадаева Т.А., Новик И.Р. Использование элементов технологии «Перевернутый класс» в обучении десятиклассников органической химии // «Актуальные вопросы и инновации в биологии, экологии, химии, аграрных науках и естественнонаучном образовании»: материалы I Всероссийской заочной научно-практической конференции. Н. Новгород, 2016. С. 156–161.
8. Погадаева Т.А., Новик И.Р. Использование элементов технологии «Перевернутый класс» для реализации требований ФГОС на уроках химии // «Инновационная деятельность в образовании»: сб. материалов IV Региональной научно-практической конференции. Н. Новгород: НГПУ им. К. Минина, 2017. С. 120–122.

9. Погадаева Т.А., Новик И.Р. Об использовании технологии «Перевернутый класс» в обучении десятиклассников органической химии // Преподавание физико-математических и естественных наук в школе. Традиции и инновации: Мат-лы Всероссийской науч.-метод. конф. Н. Новгород: ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 2017. С. 88-89.

10. Полат Е.С. Новые педагогические и информационные технологии в системе образования: учебное пособие. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 272 с.

11. Bergmann J., Sams A. Flip your classroom: reach every student in every class every day. Washington, DC: International Society for Technology in Education. 2012. P. 230.

12. Sams Aaron (11 November 2011). "The Flipped Class: Shedding Light on the Confusion, Critique, and Hype". The Daily Riff. Retrieved 7 April 2015.

13.<http://shkola129.ru> (дата обращения 27.09.2021 г.)

14. Страница учителя Кукаева Н.А. <https://infourok.ru/user/kukaev-nikolay-alekseevich> (дата обращения 27.09.21г.)

15. Сайт учителя химии и биологии Кукаева Н.А. <https://domin1ck.wixsite.com/chembio/blank-c1dmp> (дата обращения 27.09.21г.).

16. Новик И.Р., Пиманова Н.А. Аналитическая химия [Электронный ресурс]: сетевой электр. учебно-метод. комплекс по направлению 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки) профилю подготовки «Биология и Химия»; Ниж. гос. педаг. ун-т им. К. Минина: офиц. сайт. Режим доступа: <https://edu.mininuniver.ru/course/view.php?id=357> (для доступа к ресурсу необходима авторизация).

17. Новик И.Р., Лудин Д.В. Биологическая химия [Электронный ресурс]: сетевой электр. учебно-метод. комплекс по направлению 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки) профилю подготовки «Биология и химия»; Ниж. гос. педаг. ун-т им. К. Минина: офиц. сайт. Режим доступа: <https://edu.mininuniver.ru/course/view.php?id=2260> (для доступа к ресурсу необходима авторизация).

18. Пиманова Н.А., Новик И.Р. Химия окружающей среды [Электронный ресурс]: сетевой электр. учебно-метод. комплекс по направлению 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки) профилю подготовки «Биология и Химия»; Ниж. гос. педаг. ун-т им. К. Минина: офиц. сайт. Режим доступа: <https://edu.mininuniver.ru/course/view.php?id=413> (для доступа к ресурсу необходима авторизация).

УДК 577.1:61:378.147(476-25)

*Романовский И.В., Рине́йская О.Н.,
Борисевич С.Н., Глинник С.В.*

Учреждение образования «Белорусский государственный
медицинский университет»

Минск

Ryneiskaya@ mail.ru

ИТОГИ 20-ЛЕТНЕЙ РАБОТЫ КАФЕДРЫ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ БГМУ

В статье представлены сведения об истории и ключевых моментах становления и 20-летней работы коллектива кафедры биоорганической химии Белорусского государственного медицинского университета.

Ключевые слова: кафедра биоорганической химии БГМУ, история, итоги 20-летней работы.

*Romanovsky I.V., Ryneiskaya O.N.,
Borisevitch S.N., Hlinnik S.V.*

Belarusian State Medical University
Minsk

THE RESULTS OF 20 YEARS OF WORK OF THE DEPARTMENT OF BIOORGANIC CHEMISTRY, BSMU

The article presents information about the history and the key moments of the formation and features of 20 years of the work of the staff of the Department of Bioorganic Chemistry of the Belarusian State Medical University.

Key words: Department of Bioorganic Chemistry BSMU, history, results of 20 years of work.

В ноябре 2021 года исполняется сто лет со дня образования Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ). В 1921 году при открытии Белорусского государственного университета в его структуре был создан медицинский факультет, который в 1930 году был преобразован в Минский государственный медицинский институт. В апреле 2001 в БГМУ года была создана кафедра биоорганической химии. Первым заведующим кафедрой был избран профессор И.В. Романовский. С 2005 года по настоящее время кафедрой возглавляет доцент О.Н. Рине́йская.

Преподавание биоорганической химии как учебной дисциплины началось значительно раньше. История создания кафедры связана с оптимизацией медицинского образования и структурными преобразованиями нашего университета. В 1982 году состоялся расширенный семинар руководителей кафедр органической химии совместно с руководством и членами Центральной методической комиссии по преподаванию химических дисциплин при министерстве Здравоохранения СССР по вопросам состояния преподавания химических дисциплин в медицинских вузах страны. По результатам обсуждения было принято решение о введении преподавания в медицинских вузах биоорганической химии вместо традиционно преподаваемой органической химии. Участником этого совещания, как член Всесоюзной методической комиссии, был доцент кафедры органической, физической и коллоидной химии И. В. Романовский, который уже в сентябре 1982 года подготовил и прочел в Минском медицинском институте первый курс лекций по биоорганической химии. В этом же году решением Союзного Министерства здравоохранения курс физической и коллоидной химии был возвращен на кафедру общей химии, курс органической химии был реорганизован в курс биоорганической химии и передан кафедре биологической химии. Эти преобразования были вполне оправданными и закономерными, так как во второй половине XX столетия произошли знаменательные открытия в области изучения структуры и механизмов функционирования природных биологически значимых молекул. Химики-органики все шире интересовались проблемами биохимии и молекулярной биологии, изучали структуру и механизмы превращений биологически важных для процессов жизнедеятельности молекул. В результате на стыке наук возникла биоорганическая химия, изучающая структуру биологически важных молекул с использованием методов и подходов органической химии. Функционирование курса биоорганической химии в структуре кафедры биологической химии позволило провести более тесную интеграцию преподавания обеих дисциплин.

В 1984 году по решению Министерства здравоохранения курс биоорганической химии снова был передан кафедре общей химии. После катастрофы на Чернобыльской АЭС возникла острая необходимость в усилении обучения студентов медицинских вузов современным глубоким знаниям по молекулярным механизмам действия малых доз ионизирующих излучений. С этой целью в 1990 году была организована первая в Республике Беларусь кафедра радиационной гигиены и экологии, путем объединения курсов радиационной гигиены и курса биоорганической химии. После становле-

ния и развития кафедры радиационной медицины и экологии отпала необходимость в функционировании при ней курса биоорганической химии. К тому же возросло число часов, отведенных на преподавание биоорганической химии; изменился и качественный состав сотрудников курса.

В настоящее время кафедра биоорганической химии является одним из крупных учебных подразделений БГМУ, где проходят обучение студенты 1 курса лечебного, педиатрического, стоматологического, военно-медицинского, медико-профилактического факультетов, медицинского факультета иностранных учащихся, изучающие дисциплину «Биоорганическая химия». С 2012 года на кафедре обучаются и студенты фармацевтического факультета, изучающие дисциплину «Органическая химия». В период с 2012 по 2018 год сотрудники кафедры преподавали будущим провизорам также дисциплину «Аналитическая химия». В качестве дополнительной дисциплины по выбору кафедрой проводятся занятия по курсу «Методы лабораторной диагностики острых отравлений» для студентов 6 курса лечебного, педиатрического и медико-профилактического факультетов. Учебная работа успешно выполняется коллективом сотрудников, имеющих медицинское, фармацевтическое, биологическое, химическое образование.

Учебно-методическая работа кафедры направлена на совершенствование и профилизацию преподавания химии студентам различных факультетов. Так студенты медико-профилактического факультета в процессе изучения биоорганической химии приобретают знания не только о строении основных метаболитов, но и изучают молекулярные основы действия антисептиков, стерилизующих средств (спиртов, фенолов, альдегидов, четвертичных аммониевых соединений, их комбинаций), использующихся для дезинфекции, обработки рук хирурга, операционного поля, эндоскопического оборотования и др. Студентам стоматологического факультета более подробно излагаются вопросы механизмов получения синтетических полимерных материалов, зависимость их свойств от структуры и наличия определенных функциональных групп и др.

Студентами лечебного факультета шире изучаются стереохимическое строение и свойства, использующихся в медицинской практике лекарственных средств, формируется представление о специфичности комплементарного взаимодействия лекарственного вещества и рецептора, а также о зависимости распределения лекарства или токсина в биожидкостях и тканях от его строения, растворимости в воде и липидах. При этом программой предусмотрено развитие у студента начальных представлений о формирова-

нии зависимости от химических веществ, а также о методах детоксикации при отравлении алкалоидами и другими ксенобиотиками. Вышеуказанные сведения важны для усвоения последующих дисциплин (биологической химии, физиологии, фармакологии, токсикологии, реаниматологии и других как гигиенических, так и клинических дисциплин).

В связи с открытием фармацевтического факультета с 2012 года сотрудниками кафедры проводилась серьезная работа по методическому обеспечению преподавания органической и аналитической химии. Были организованы учебные лаборатории, разработаны методические рекомендации для проведения занятий, отработан практикум, созданы лекции, контролирующие материалы, изданы пособия на русском и английском языках. В 2018 году курс «Аналитическая химия» был передан кафедре фармацевтической химии, а курс «Органическая химия» совершенствовался и углублялся далее. Преподавание органической химии, являющейся одной из базовых дисциплин в системе высшего фармацевтического образования, направлено на развитие способности у будущего провизора оценивать физические свойства, химическую реакционную способность соединений, планировать и выполнять химический эксперимент по качественному функциональному анализу органических веществ, их синтезу, очистке, определению физических констант.

С 2009 года кафедрой проводится курс по выбору студента «Методы лабораторной диагностики острых отравлений». Диагностика не стоит на месте, она движется быстрыми шагами, освоение актуальных методов лабораторной диагностики необходимо для расширения мировоззрения и становления будущего врача-профессионала.

Целью данного элективного курса является приобретение выпускниками знаний и практических навыков в области организации и проведения анализа потенциально опасных для человека широко доступных химических, в том числе лекарственных, соединений. Курс обеспечен учебной литературой [1]. Владение теоретическими и практическими основами химико-токсикологического анализа необходимо студенту выпускного курса для последующей специализации в области судебно-медицинской экспертизы, клинической токсикологии, наркологии, экологической медицины. Занятия курса проводятся как на кафедре, так и в химико-токсикологической лаборатории Республиканского токсикологического центра на базе Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска. Для установления обратной связи со слушателями курса, разработана анкета с вопросами, касающимися методической обес-

печенности и уровня преподавания курса, мотивации, приведшей выпускника именно на данный курс. Анализ отзывов показывает, что выбор курса связан с будущей профессией выпускника, так как некоторые из них распределены врачами анестезиологами реаниматологами, либо врачами лабораторной диагностики. Выпускники выражают удовлетворенность организацией, уровнем преподавания и методической обеспеченностью занятий, отмечают практическую направленность полученных знаний.

Закономерным результатом серьезной учебно-методической работы, направленной на установление междисциплинарных связей, было создание учебников, учебных и учебно-методических пособий на русском и английском языках [2, 3].

В рамках реализации инновационного образовательного проекта «Компьютерное тестирование в БГМУ» на кафедре создана система обучающего и контролирующего компьютерного тестирования по биоорганической химии, органической химии, аналитической химии, лабораторной диагностике отравлений, составлены и сертифицированы электронные учебно-методические комплексы для всех обучающихся на кафедре студентов. ЭУМК оказались особенно востребованными при переходе на дистанционное образование в связи с эпидемиологической обстановкой по заболеваемости COVID-19.

Тематика научных исследований кафедры определялась междисциплинарным характером биоорганической химии и была заложена видными учеными и организаторами образования. Направлениями научных исследований кафедры биоорганической химии в разное время являлись: изучение процессов перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты, тиол-дисульфидного обмена при различной экспериментальной патологии (рост экспериментальных опухолей, ожоговая травма, радиационное воздействие, стресс, гипотиреоз, их комбинации) и в возрастном аспекте, а также коррекция последствий указанных воздействий различными фармакологическими средствами; исследование молекулярно-массового распределения продуктов промежуточного обмена белков в оценке состояния здоровья.

В настоящее время сотрудники кафедры принимают участие в исследованиях по ряду направлений. Осуществляется получение, структурный анализ и изучение свойств стероидов и других изопреноидов, аналогов природных производных пиперидина, птеридина и биологически активных соединений в поиске фармакологически активных субстанций. Производится разработка и внедрение метода оценки риска развития заболеваний у работников, занятых в

условиях воздействия химического производственного фактора. Изучается роль растворимых факторов тромбоцитов в пролиферации и дифференцировке стволовых клеток человека. Проводится анализ биологически активных добавок к пище для питания спортсменов. Разрабатываются методики химико-токсикологического анализа лекарственных средств и других ксенобиотиков. *In silico* методами молекулярного докинга изучаются биологически активные вещества и их роль в протекании биохимических процессов. Проводятся исследования по установлению связи мутационного статуса определенных генов с риском развития злокачественных образований. Выполняется докторская диссертация по разработке методов диагностики вирусных гепатитов с использованием полимеразной цепной реакции и наносенсорных систем. На кафедре также планируется выполнение диссертационного исследования на соискание ученой степени доктора наук в области визуализации, моделирования, эстетики и психологии познания химических объектов и процессов с разработкой инновационных методик преподавания химии в средней и высшей школе.

Результаты научных исследований сотрудники кафедры представляют на ежегодных научных сессиях БГМУ, международных научных конференциях и симпозиумах (Латвия, Литва, Греция, Украина, Испания, Польша, Россия, Чехия, Франция, Хорватия, Эстония и др.). Профессор И.В. Романовский курирует сотрудничество БГМУ с Международным Советом больничной гигиены Германии, доцент Ф.Ф. Лахвич является членом редколлегии международного научного журнала *Journal of Baltic Science Education*, участником заседаний комитета по образованию FEBS.

На кафедре биоорганической химии функционирует студенческий научный кружок. Для многих студентов работа в кружке под руководством преподавателей кафедры стала началом научной и педагогической карьеры. В организации научной работы со студентами большое значение придается проективному и мотивационному подходу при руководстве научной работой студентов, который предусматривает включение студентов в научно-исследовательскую работу кафедры с учетом их подготовленности. По итогам научно-исследовательской деятельности наиболее успешные студенты участвуют в ежегодных международных студенческих научных конференциях, проводимых БГМУ и другими учреждениями образования. Лучшие студенческие работы принимают участие в Республиканском конкурсе научных работ студентов. Использование в профессиональной подготовке студентов потенциала научной работы позволяет создавать условия для форми-

рования высоких личностных качеств будущего специалиста, помогающих ему творчески подходить к решению профессиональных задач и овладевать инновационными технологиями.

Важнейшим направлением работы кафедры является воспитательная работа. Воспитание и развитие личности — составляющие образования. Кафедра гордится своими традициями воспитательной работы, направленной на успешную адаптацию студентов первого курса к условиям обучения и новым социальным отношениям. Так как кафедра биоорганической химии относится к медицинскому факультету иностранных учащихся, большое значение имеет кураторская работа с иностранными студентами, направленная на успешную социокультурную адаптацию иностранных студентов в нашей стране. В течение последних лет кафедра курирует Землячество студентов Государства Израиль — объединение обучающихся студентов и клинических ординаторов израильских граждан. В целом же воспитательная работа помогает решать одну из важных задач медицинского образования — выпускать из стен университета не просто врачей, а одухотворенных и гуманных личностей.

Коллектив кафедры является сплоченной командой единомышленников, обладающей высоким научным и педагогическим потенциалом, сохраняющим преемственность профессиональных знаний, преумножающим сложившиеся за 20-летний период традиции в подготовке компетентных специалистов.

Список литературы

1. Борисевич С.Н. Лабораторная диагностика острых отравлений: учеб. пособие / С.Н. Борисевич. Минск: Вышэйшая школа, 2016. 223 с.
2. Биоорганическая химия: учебник / И.В. Романовский, В.В. Болтromeюк, Л.Г. Гидранович, О.Н. Ринейская; под общ. ред. И.В. Романовского. Минск: Новое знание; М.: ИНФА-М, 2015. 504 с.
3. Ринейская О.Н., Романовский И.В., Лахвич Ф.Ф., Глинник С.В. Bioorganic chemistry: учебное пособие для иностранных студентов (Допущено Министерством образования Республики Беларусь в качестве учебного пособия для иностранных студентов учреждений высшего образования по специальностям «Лечебное дело», «Стоматология»). Мн.: Новое знание, 2018. 176 с.

УДК 372.854: 541.69:54(091)

Саркисян З.М., Векслер И.А., Некрасов М.С.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Санкт-Петербург
zara-sark@inbox.ru

МЕТАПРЕДМЕТНЫЕ ЗНАНИЯ В КУРСЕ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ

В работе рассматриваются ключевые темы медицинской химии, преподаваемой в рамках ФГОС для медицинских вузов, имеющие развитие и расширение знаний в следующих дисциплинах, изучаемых на более старших курсах.

Ключевые слова: педиатрический университет, медицинская химия, метапредметные связи, изучение темы.

Sarkisian Z.M., Vexler I.A., Nekrasov M.S.

St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg

METASUBJECT KNOWLEDGE IN THE STUDY OF MEDICINAL CHEMISTRY

The work examines the key topics of medicinal chemistry taught within the framework of the Federal State Educational Standart for medical universities, which have the development and expansion of knowledge in the following disciplines studied in older courses.

Key words: pediatric university, medicinal chemistry, metasubject communications, study of the topic.

Медицинская химия является одной из самых важных дисциплин в обучении студентов 1 курса медицинских университетов, так как именно этот курс предполагает логическое продолжение, усложнение и развитие знаний по химии вчерашних школьников. С самого начала хотелось бы отметить, что на занятиях химии представляется возможным осуществление воспитательных функций и, самое главное, патриотического. Так, в случае изучения материала второго семестра относительно органических реакций, правил (теория строения органических веществ А.М. Бутлерова, реакции Коновалова, Кучерова, Бородина, Вагнера, правило Попова и т.д.) мы останавливаемся на авторах этих реакций, рассказывая биографические данные, интересные факты, прививая студентам свойство знать и уважительно относиться к нашей истории. Кроме того, на примере реакции композитора-химика А.П. Бородина обязательно на лекции вспоминаем о его опере «Князь Игорь», таким образом, те студенты, у которых отсутствовали понимания в музыке и об

операх, в целом, а пока, к сожалению, это имеет место быть, мы приведем эти данные, осуществляя связь с гуманитарными предметами, изучаемыми на первых курсах, в том числе, педиатрического университета.

Тема растворы, выражение концентраций, переход от одних концентраций к другим с помощью одной формулы, настаивая на запоминании для дальнейшей медицинской практики, так как известны случаи, когда врач должен пересчитать лично состав лекарственного препарата, зная его, например молярность или массовую долю. Основные формулы, законы темы «Коллигативные свойства» нужны в дальнейшем в изучении фармакологии, в прохождении практики в реанимационных отделениях, при измерении кислотности крови, мочи, осмотического давления и осмолярности крови.

Тема буферные растворы, являясь также наиважнейшей, применяется дальше на биохимии, изучаемой на 1–2 курсах студентами-медиками. Понимая компенсаторные механизмы внутренней среды нашего организма студенту будет проще далее ориентироваться в курсе физиологии, патофизиологии, биохимии и пр.

Разделы аналитической химии необходимы врачу клиницисту особенно, так как позволяют самому перепроверить результаты, например, с помощью тех или иных способов титрования — определение ядов в крови, моче, нахождение точной концентрации различных металлов, например железа, с помощью перманганатометрии и пр.

Химические задачи и их решение, предполагаемое в каждом разделе изучаемой медицинской химии, максимально приближены к клиническим ситуациям, даны именно с точки зрения применения знаний законов химии в практике врача, с которыми возможно столкнется каждый наш выпускник.

Понятно, что разделы курса «Физико-химические основы современных методов исследований в медицине» напрямую связаны с курсом биохимии, фармакологии, физиологии, но, с другой стороны, изучение принципов работы, устройства приборов ядерно-магнитного резонанса, спектрофотометров, позволит понять принципы работы на аппаратах магнитно-резонансного томографа, ультразвуковой диагностики.

Одним из аспектов и средств, повышающих интерес не только к изучению медицинской химии в педиатрическом университете, но и обучение ведению и планированию научной работы является членство в студенческом научном обществе, которое активно внедрено на нашей кафедре, позволяет студентам с первых же дней уметь

использовать навыки нахождения нужного материала для реализации мини-научных проектов [1].

Уход на дистанционное обучение в 2020 г практически не повлиял на качество процесса обучения, в частности, дисциплина медицинская химия. Использование различных технических средств обучения позволило выйти из такого нетипичного положения. Не только студенты, но и преподавательские коллективы очень быстро освоили новые технологии, осуществляя и находясь в контакте с кафедрами информационного профиля (программирование) [2].

Таким образом, дисциплина медицинской химии позволяет с первых дней обучения войти и вжиться в жизнь будущего компетентного, грамотного врача.

Список литературы

1. Саркисян З.М., Шкутина И.В., Кабанов А.В. Актуальные научные проекты студентов в рамках студенческого научного общества Санкт-петербургского государственного педиатрического медицинского университета // Инновации в образовании. Материалы X юбилейной региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием, посвященной 100-летию ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, 2020. С. 370-373.

2. Саркисян З.М. Положительные и отрицательные аспекты дистанционного обучения как выход из сложившейся ситуации 2020 года // Современные наукоемкие технологии. 2020. № 6-2. С. 364-368.

УДК 378.016:54

Серкина Е.А.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный
медицинский университет» Минздрава России
Киров
svoboda155@mail.ru

УЧЕБНЫЕ КОНФЕРЕНЦИИ КАК ФОРМА ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ХИМИЧЕСКИХ ДИСЦИПЛИН В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ

Рассматривается роль учебных конференций при изучении химических дисциплин в медицинском вузе как средства интеграции исследовательской работы студентов в образовательный процесс. Представлен опыт организации учебных конференций студентов первого курса специальности 31.05.03 «Стоматология».

Ключевые слова: учебная конференция, преподавание химических дисциплин, медицинский вуз.

Serkina E.A.

Kirov State Medical University
Kirov

EDUCATIONAL CONFERENCES AS A FORM OF EDUCATIONAL PROCESS IN THE STUDY OF CHEMICAL DISCIPLINES AT A MEDICAL UNIVERSITY

The role of educational conferences in the study of chemical disciplines in a medical university as a means of integrating students' research work into the educational process is considered. The experience of organizing training conferences for first-year students of the specialty 31.05.03 Stomatology is presented.

Key words: educational conference, teaching of chemical disciplines, medical school.

Изучение химических дисциплин — важная часть естественно-научной подготовки в медицинском вузе, создающая основу для формирования клинического мышления будущего специалиста.

Традиционными формами организации учебного процесса в медицинском вузе являются лекции, практические занятия, лабораторный практикум. Исследовательская работа студентов ведется, как правило, внеаудиторно, вовлекается в нее сравнительно небольшое число студентов. Учебные кафедральные конференции в этих условиях выступают и в качестве способа интеграции образовательной и научной работы [2], и в качестве формы коллективного изучения нового материала [3].

Под конференцией, как правило, понимается форма организации научной (исследовательской) деятельности, при которой учебные (обучающиеся) собираются для обсуждения вопросов, посвященных какой-либо определенной теме. Согласно Словарию-справочнику современного российского профессионального образования, «по своему статусу конференция занимает промежуточное положение между семинаром и конгрессом» [4]. Применительно к практике преподавания в вузе, учебная предметная конференция может быть рассмотрена как разновидность семинарского занятия.

Студенческие конференции могут быть организованы по итогам учебно-исследовательской деятельности различной глубины и вовлеченности в исследования. При этом учебные конференции студентов младших первого курса по своему характеру является чаще научно-теоретическими, так как в их рамках обсуждаются теоретические подходы к решению различных научных проблем и вопро-

сов, постоянно возникающих в ходе исследований или экспериментов [1]. Как правило, на таких конференциях делаются аналитические обзоры литературы по отдельным вопросам дисциплины, обсуждаются новые разработки, исследования, открытия и т.д.

Представим опыт проведения учебных конференций со студентами I курса специальности 31.05.03 Стоматология. Согласно учебному плану, отвечающему ФГОС ВО 3+, студенты-стоматологи в течение первого года обучения последовательно изучали дисциплины «Химия», «Биоорганическая химия и химические нанотехнологии в стоматологии». Изучение дисциплины Химия включает знакомство с основными понятиями и законами, принципами химической термодинамики, кинетики, свойствами растворов электролитов, основами коллоидной химии. При этом с учетом ограниченного времени занятия знакомство с практическим применением изучаемого материала в стоматологии ведется фрагментарно, в качестве отдельных примеров. В то же время, изучение материала, демонстрирующего непосредственную связь химии с будущей профессией, позволяет не только оптимальным образом формировать компетенции, но и повышать познавательный интерес, мотивацию к изучению предмета. Учебная конференция позволяет разрешить данное противоречие.

В рамках самостоятельной работы в начале семестра студентам в парах предлагается подготовить обзор литературы по одной из тем практико-ориентированного характера, отражающего связь с профессией. Например, «Хром как компонент биотолерантных сплавов», «Химия биотолерантных сплавов в ортопедической стоматологии», «Химические аспекты влияния зубных протезов на ткани полости рта» и т.п. В качестве результата работы студенты готовят доклад и мультимедиа-презентацию. Примерный перечень тем представляется студентам преподавателями, при этом допускается и даже приветствуется предложение собственной темы.

Как показывает опыт, студенты, ранее получившие среднее профессиональное образование, уже на первом курсе имеют определенные профессиональные интересы и предпочитают выбирать темы, непосредственно связанные со стоматологической практикой. Их работу отличает высокая заинтересованность, владение практическим материалом. Однако преподавателю при руководстве таких работ важно обращать внимание на то, чтобы были раскрыты именно химические аспекты рассматриваемых вопросов.

На протяжении двух месяцев студенты готовят работы, периодически представляя промежуточные результаты на проверку преподавателю. Как показывает практика, студентов представляет

определенную трудность отбор, систематизация и обобщение материала, поэтому руководство на данном этапе часто связан именно с помощью в том, как выделить главное в большом объеме собранного материала, как оптимальным образом оформить мультимедиа-презентацию.

Обязательным условием является публичное представление подготовленных докладов всеми студентами. Первый этап конференции проводится в учебных группах, на практическом занятии. Каждый доклад заслушивается, задаются вопросы, отмечаются сильные и слабые стороны как в содержании работы, так и в ее представлении.

По итогам первого этапа определяются лучшие работы, которые уже представляются на втором этапе — общекурсовой конференции. Докладчики здесь получают опыт выступления перед большой аудиторией. Поддерживать интерес всей аудитории помогает конкурс на самого активного участника: оценивается количество и качество задаваемых докладчикам вопросов. Важными задачами для преподавателя-руководителя на данном этапе являются контроль времени выступления, следования деловой этике участников конференции. Также ведется своеобразная «модерация» задаваемых вопросов: отсеиваются вопросы технического характера, корректировка формулировки вопросов, относящихся скорее к сфере материаловедения, чем к химии. По итогам конференции докладчики второго этапа, а также наиболее активные участники награждаются.

Во втором семестре, при изучении дисциплины «Биоорганическая химия и химические нанотехнологии в стоматологии» проводится аналогичная конференция, посвященная химии биологически важных веществ. Отличительной особенностью этой конференции являлось индивидуальное участие (без объединения в пары, подгруппы), более высокая самостоятельность студентов в подготовке работ. Первый этап проводится в форме заочной оценки преподавателям представленных студентами материалов. Авторы лучших работ приглашаются к участию в очном туре конференции. Так как программа очного тура конференции вывешивается заранее, у студентов имеется возможность заранее подготовить вопросы докладчикам. Следует отметить, что учебные группы неоднородны по исходному уровню подготовки, и в ходе обсуждения спорных вопросов на таких конференциях получен интересный опыт совмещения высокой теоретической подготовки студентов-выпускников школ и знания прикладных аспектов студентами-выпускниками медицинских колледжей.

Рассмотренный подход к организации и проведению конференций способствует оптимизации самостоятельной работы студентов, повышению уровня их исследовательских умений, навыков работы с литературными источниками. Также немаловажно содействие расширению естественнонаучного и профессионального кругозора студентов в ходе такой работы.

Список литературы

1. Андреев В.И. Педагогика высшей школы. Инновационно-прогностический курс. Казань: Центр инновационных технологий, 2013. 500 с.
2. Королева Е.В. Эффективность учебной конференции как формы организации самостоятельной работы в высшей школе. 2016. №2 (47). С. 107–110.
3. Кривенко И.В. Студенческая конференция как одна из форм учебного процесса / И.В. Кривенко, С.Р. Испарян, Г.Н. Иванов // Интеграция методической (научно-методической) работы и системы повышения квалификации кадров // Материалы XIX Международной научно-практической конференции. С. 98–101.
4. Словарь-справочник современного российского профессионального образования / авторы-составители: Блинов В.И., Волошина И.А., Есенина Е.Ю., Лейбович А.Н., Новиков П.Н. Выпуск 1. М.: ФИРО, 2010.

УДК 378

Стихова А.М.¹, Трудникова Н.М.², Фадеев Г.Н.³

¹ФГБОУ ВО «Государственный морской университет
им. адмирала Ф.Ф. Ушакова»

Новороссийск

²ГБПОУ КК «Новороссийский социально-педагогический колледж»

Новороссийск

³ФГБОУ ВО «Московский государственный технический
университет им. Н.Э. Баумана»

Москва

¹*stihova.am@mail.ru*, ²*trudnikova_natali@mail.ru*, ³*gerfad@mail.ru*

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ДИСТАНЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ

В статье рассматривается проблема организации самостоятельной работы студентов в дистанционном обучении. Предлагается система дидактических задач, способных повысить эффективность процесса обучения в дистанционном формате.

Ключевые слова: самостоятельная работа, дистанционное обучение, система дидактических задач.

Stikhova A.M.¹, Trudnikova N.M.², Fadeev G.N.³

¹Admiral Ushakov Maritime State University, Novorossisk

²Novorossiysk Social and Pedagogical College, Novorossisk

³Bauman Moscow State Technical University, Moscow

INDEPENDENT WORK OF STUDENTS IN THE CONDITIONS OF DISTANCE LEARNING

The article deals with the problem of organizing independent work of students in distance learning. A system of didactic tasks is proposed that can increase the efficiency of the learning process in a distance format.

Key words: independent work, distance learning, system of didactic tasks.

Государственные образовательные стандарты последних поколений предусматривают сокращение доли аудиторных занятий и увеличение времени, отводимого на самостоятельную работу. В случае дистанционного обучения эта тенденция проявляется еще заметнее. Термин «дистанционное обучение» означает такую организацию учебного процесса, при которой преподаватель разрабатывает учебную программу, главным образом базирующуюся на самостоятельном обучении студента [1].

При дистанционном обучении сохраняются все присущие учебному процессу компоненты (содержание, средства обучения, цели, организационные формы, методы), которые, в свою очередь, должны быть обеспечены современными информационными технологиями. С внедрением дистанционных образовательных технологий повышается роль преподавателя. Это создание видеолекций, видеоэкспериментов, тестовых материалов, контрольно-практических заданий и др. Это и организация обратной связи с обучаемыми, и решение проблемы контроля качества обучения в дистанционном формате.

Дистанционное обучение все чаще приобретает характер самостоятельной работы студентов, организуемой и управляемой преподавателем на основе новейших информационных методов и средств обучения [2]. Отсюда наибольшее значение приобретает организация самостоятельной работы, развитие навыков самостоятельного изучения учебного материала. Преподаватель планирует, организует, оценивает и контролирует самостоятельную деятельность студентов.

Эффективное дистанционное обучение невозможно без наличия у обучающихся навыков самостоятельной работы и готовности к самостоятельному освоению знаний. Одним из условий, определяющих эффективность самостоятельной работы, является адекватное оценивание студентами собственных умений и навыков самостоятельной деятельности. Организацию и мониторинг самостоятельной работы можно успешно проводить с использованием электронных средств обучения [3]. Кроме того, студенты должны быть мотивированы на развитие собственно самостоятельной работы. Для оценки эффективности самостоятельной работы такого типа нами создана компьютерная программа “Assessment of student’s coursework” [4].

Мотивационная составляющая должна быть выражена достаточно сильно, так как такая форма обучения предполагает понимание студентами необходимости много работать самостоятельно. У современного студента есть большой соблазн и достаточно способов «несамостоятельной» учебы, а у преподавателя мало возможностей для качественного контроля подобных дистанционных технологий. Один из главных мотивов эффективного обучения — соперничество, проявляемое студентами у доски, в устных сообщениях, самостоятельном выполнении творческих заданий и др., не работает в дистанционном режиме. Не развиваются социальные навыки и умения выступать на публике, работать в команде.

Несмотря на многообразие используемых средств обучения в дистанционном формате, к сожалению, отсутствует живое общение (зрительный контакт) преподавателя со студентами и студентов между собой, работа у доски. При проведении занятий нет уверенности в том, что студенты реально на нем присутствуют, слушают и понимают содержание учебного курса.

В дистанционном обучении больше внимания уделяется технологии и уровням организации учебного процесса. А в обучении один из главных элементов — система правильно сформулированных дидактических задач. Старые формы и методы, режим учебного дня, включая расписание занятий, не укладываются в новый формат.

Следует учитывать тот факт, что эффективность обучения в дистанционном режиме существенно зависит от самоорганизации студентов. Самоорганизация — это одна из основных проблем дистанционного обучения. Не все могут самостоятельно организовать свой труд при отсутствии реального контроля посещения занятий и мониторинга самостоятельного выполнения работ.

Отрицательно сказывается на развитии самостоятельной работы отсутствие полноценных лабораторных и практических занятий, реального эксперимента. Не формируются практические навыки и

тактильные ощущения. Это влияет не только на процесс усвоения знаний, развитие мышления, мыслительных процессов, но и на работу памяти. Человек запоминает не только изображение и звук, но и запахи, ощущения — в дистанционном обучении этого нет. При дистанционном обучении наносится непоправимый ущерб развитию устной речи обучаемых.

Обычная лекция стимулирует самостоятельный поиск знаний, в том числе за счет харизмы и вовлеченности преподавателя в предмет. В электронном же курсе отсутствуют мимика и жесты, паузы, эмоциональное окрашивание знаний, т.е. все те средства, которые традиционно способствуют более эффективному восприятию материала. В аудитории преподаватель, как правило, чувствует по глазам, вопросам, ответам, насколько студенты понимают материал и, по ходу лекции реализует возможность оперативно корректировать учебный процесс. Из-за того, что лектора нельзя поставить на паузу и отмотать назад, студенты вынуждены внимательно его слушать и понимать информацию в конкретные промежутки времени.

Сегодня студенты знают, где и на каком сайте найти нужную информацию, но неспособны к самостоятельному усвоению учебного и научного текста, что приводит к снижению уровня системобразующих знаний. Вот почему так важны знания о механизме самостоятельной деятельности по усвоению содержания учебного курса, формирование навыков использования этого механизма в учебном процессе [4]. А это возможно лишь в условиях контактной индивидуальной работы со студентами.

Итак, с одной стороны, чтобы быть эффективным, дистанционное обучение, должно опираться на хорошо сформированные умения и навыки самостоятельной работы, а с другой именно такая форма организации обучения предполагает дальнейшее развитие самостоятельной работы и формирование самостоятельности, как черты личности студента. Для этого необходимо пересмотреть методику обучения, создать новую модель деятельности студента и его взаимодействия с преподавателем.

Список литературы

1. Водолад С.Н., Зайковская М.П., Ковалева Т.В., Савельева Г.В. Дистанционное обучение в вузе // Ученые записки. Электронный научный журнал Курского государственного университета. 2010. № 1 (13). С. 129–138.
2. Витязева О.В. Комплексная самостоятельная работа студентов при изучении неорганической химии // Известия Российского

государственного педагогического университета им. А. И. Герцена. 2008. № 73-2. С. 33-36.

3. Иванова И.С., Попов А.С. Опыт использования электронного обучения при организации самостоятельной работы студентов I курса медицинского вуза при изучении дисциплины «Общая химия, Биоорганическая химия» // Инновации в образовании: Мат-лы X юбилейной региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием, посвященной 100-летию ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, 25 марта 2020 года.

4. Стихова А.М., Трудникова Н.М. Компьютерные технологии в системе оценивания и контроля самостоятельной работы студентов. В сборнике: Актуальные проблемы химического и биологического образования материалы X Всероссийской научно-методической конференции с международным участием. Московский педагогический государственный университет, Институт биологии и химии. Москва, 2019. С. 317–322.

УДК 378:54

Шкутина И.В.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет» Минздрава России
Санкт-Петербург
irn55@mail.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ПРОБЛЕМЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ

Проанализированы проблемы, связанные с реализацией современных требований к химическому образованию в медицинском вузе. Рассмотрены пути обновления содержания и организации процесса преподавания химии для повышения качества медицинского образования студентов, а также некоторые особенности обучения иностранных студентов.

Ключевые слова: естественнонаучные дисциплины, компетентностный подход, онлайн-обучение, практические занятия, научно-исследовательская деятельность.

METHODOLOGICAL ASPECTS AND PROBLEMS OF TEACHING CHEMISTRY AT A MEDICAL UNIVERSITY

The problems associated with the implementation of modern requirements for chemical education in a medical university are analyzed. The ways of updating the content and organization of the process of teaching chemistry to improve the quality of medical education of students, as well as some features of teaching foreign students are considered.

Key words: natural science disciplines, competence-based approach, online training, practical classes, research activities.

Подготовка врачей с опорой на фундаментальные естественные науки имеет давние традиции. М.В. Ломоносов считал, что «медик без довольного познания химии совершен быть не может».

Обучение химии в медицинском вузе отличается определенной спецификой по сравнению с университетским химическим образованием, а также другими вузами, в которых преподается данный предмет. Основной задачей курса химии в медицинском вузе является обеспечение базовой химической грамотности и общетеоретической химической подготовкой врача, усвоение основополагающих понятий, законов, теорий, необходимых для дальнейшего изучения профессиональных дисциплин.

Введение новых ФГОС ВПО привело к серьезным изменениям в химическом образовании в медицинском вузе и вызвало ряд проблем [1, 2].

Несмотря на фундаментальную роль, изучение химической науки осуществляется только студентами первых курсов. По новому стандарту произошло сокращение количества аудиторных часов, отведенных на преподавание химии. Изучение сложного и насыщенного программного материала по предмету совпадает с периодом адаптации студентов-первокурсников к вузовской системе обучения. Существенной проблемой является углубляющееся противоречие между уровнем школьной подготовки по химии и требованиями вуза к знаниям абитуриентов.

Поэтому важнейшим фактором реализации современных требований к химическому образованию медиков и качественному овладению базовым предметом общей химии является обновление содержания курса и современная организация процесса его усвоения. Вследствие этого необходим более обоснованный отбор учебного

материала, совершенствование методики преподавания, активизация и интенсификация учебного процесса, познавательной деятельности и самостоятельной работы студентов [3, 4].

Традиционно одним из основных элементов обучения являются лекции. Наряду с лекциями для очного обучения преподавателями кафедры общей и медицинской химии им. проф. В.В. Хорунжего разработан цикл лекций для онлайн обучения. Несмотря на отсутствие непосредственного общения с аудиторией, преподаватели стремятся сделать лекцию максимально доступной, подробно останавливаясь на ключевых моментах изучаемой темы, анализируя соответствующие примеры, тестовые задания, решения типовых расчетных задач. Важным аспектом обучения является также наличие комплексного методического обеспечения курса, включающего методические пособия, разработанные по темам преподаваемого предмета. Для самостоятельной подготовки студентов на сайте кафедры представлены вопросы по всей изучаемой программе, тестовые задания и расчетные задачи.

Эффективным способом повышения качества медицинского образования является интеграция базовой программы по химии и вариативного курса обучения. Возможность введения вариативных курсов позволяет расширить информационное поле химического компонента медицинского образования. Нашей кафедрой разработан и успешно внедрен в учебный процесс вариативный курс «Физико-химические основы современных методов исследования в медицине».

Невозможно стать врачом, овладев только теоретическими знаниями. Практические занятия имеют не меньшую обучающую функцию, чем лекции. На лабораторных занятиях студенты приобретают навыки проведения химического эксперимента: знакомятся с химической посудой, приборами, визуально наблюдают за теми процессами, о которых упоминалось на лекциях. Чтобы повысить эффективность лабораторных работ преподаватели кафедры стараются их правильно организовать, разработали серию опытов, имеющих практическое значение, требующих теоретическое обоснование или расчеты.

Преподаватель должен научить студента не только решать задачи, писать формулы и уравнения, формулировать законы и описывать свойства химических соединений. Опыт, компетентность, объективность, коммуникабельность преподавателей кафедры имеют огромное значение в обучении первокурсников, особенно иностранных студентов. Так как спрос на российское высшее об-

разование возрастает, то ежегодно увеличивается число иностранных студентов, поступающих в российские вузы.

В связи со сложившейся эпидемиологической ситуацией экзамены для иностранных студентов последние два года в нашем вузе проводились дистанционно. Использование различных платформ, интернет-ресурсов позволило реализовать смешанный тип проведения вступительного экзамена. Проводилось знакомство с абитуриентом, затем велась беседа по различным разделам дисциплины. Опрос проходил как на русском, так и на английском языке для абитуриентов, поступающих в группы с обучением на языке-посреднике.

Возврат к смешанному типу опроса, без тестов, без ЕГЭ, в случае приема вступительного экзамена у иностранных абитуриентов обеспечил максимальную объективность в оценке качества знаний. Среди абитуриентов определенную долю составляли слушатели подготовительного отделения. Как показали результаты экзаменов, именно эти абитуриенты и набрали самые высокие баллы, так как их уровень знаний и подготовка максимально соответствовали требованиям наших вузов.

В СПбГПУ траектория обучения выстроена таким образом, что иностранные студенты в течение нескольких месяцев овладевают русским языком, а затем переходят к изучению естественнонаучных дисциплин. Химия, биология, физика имеют свою специфическую терминологию. И здесь важен тандем в обучении: преподаватель русского языка — преподаватель-предметник. Созданы специальные методические пособия, содержащие необходимый отбор наиболее значимых слов, выражений для каждого предмета. Преподаватели русского языка и естественнонаучных дисциплин постоянно контактируют друг с другом, согласовывают учебные программы, уточняют определения понятий, обозначения величин.

При обучении иностранных студентов очень важна объективность суждения преподавателя. Иностранные студенты всегда эмоционально реагируют на свои успехи и неудачи, часто просят мотивировать свою оценку. Практически у всех иностранных студентов велико желание получить отличную отметку, хотя порой уровень знаний ей не соответствует. Задача преподавателя — убедить студента в адекватности оценки, при этом не обидев его.

Эффективным способом оптимизации учебного процесса и повышению мотивации обучения является участие студентов в работе СНО [5]. Универсальные умения и знания, обозначенные в профессиональных стандартах, например, владение информаци-

онно-компьютерными программами, способность анализировать и интерпретировать полученную информацию, развиваются и совершенствуются студентами в процессе научно-исследовательской деятельности.

Студенты работают над темами, связанными с механизмом действия и анализом физиологически активных веществ, исследованием патологических процессов, протекающих в организме человека, вызываемых экзогенными и эндогенными токсичными веществами и другими вопросами, представляющими для них познавательный и профессиональный интерес. Участие студентов в СНО способствует самостоятельному поиску информации и инновационных путей в практической деятельности по выбранной специальности [6].

Обучение будущих врачей должно обеспечивать полноценное развитие личности студента и формирование универсальных, общепрофессиональных и профессиональных компетенций. Химический компонент высшего медицинского образования является важным звеном, которое позволяет студенту медицинского вуза быть готовым и способным применять химические знания, умения и опыт в дальнейшей учебной и далее профессиональной деятельности [7].

Таким образом, модернизация химического образования в медицинском вузе определяет новые ориентиры для организации учебного процесса, которые должны обеспечить всестороннюю подготовку компетентных специалистов медицинского профиля на основе современных методологических подходов — системного, деятельностного, компетентностного, личностно-ориентированного и др.

Список литературы

1. Подшивалова И.А., Хомяков К.П., Павлов Н.Н. Модернизация образования: от школы до ВУЗа // Высшее образование в России. 2011. № 2. С. 157–160.
2. Преподавание дисциплин химического профиля в современном медицинском университете: проблемы и перспективы // А.Б. Салмина, Л.Л.Петрова, Л.В.Туфанова В.А. Кутяков, Н.В.Кувачева // Сибирское медицинское обозрение. 2012. № 6. С. 90–93.
3. Педагогические технологии в учебном процессе кафедры медицинского вуза / Князева Л. И. [и др.] // Высшее образование в России. 2017. № 3 (210). С. 146–150.

4. Литвинова Т.Н., Литвинова М.Г. Современный курс химии в медицинском вузе: цели, содержание, структура // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 4. URL:<http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27831> (дата обращения: 13.09.2021).

5. Саркисян З.М., Шкутина И.В., Кабанов А.В. Актуальные научные проекты студентов в рамках студенческого научного общества Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета // Материалы X Юбилейной региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием “Инновации в образовании”. Краснодар. 2020. С. 370-373.

6. Шукшина Т. И., Мовсесян Ж. А. Формирование дидактической компетентности студентов в процессе самостоятельной работы // Высшее образование в России. 2017. № 10 (216). С. 83-87.

7. Хуторской А.В. Методологические основания применения компетентностного подхода к проектированию образования // Высшее образование в России. 2017. № 12 (218). С. 85-91.

УДК 577.121

Ярватая М. А., Лазарева Е.К., Королева И.П., Юшкова Е.И.

ФГБОУ ВО «Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева»

Орел

may0330@mail.ru, chemistry.med@yandex.ru

ЛЕКЦИЯ КАК ВАЖНЕЙШАЯ ФОРМА ЗАНЯТИЙ ПО БИОХИМИИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ВЫСШЕГО МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Данная статья посвящена роли лекции при изучении дисциплины «Биохимия» в медицинском вузе. В современном обществе, когда вокруг огромное количество различной информации, получить необходимые знания нелегко, нужно уметь адаптироваться к быстро изменяющимся условиям жизни. Лекция остается неотъемлемой частью при получении высшего медицинского образования.

Ключевые слова: высшее медицинское образование, лекция, биохимия.

THE LECTURE AS THE MOST IMPORTANT FORM OF BIOCHEMISTRY CLASSES IN OBTAINING HIGHER MEDICAL EDUCATION

This article tells about the role of lectures in the study of the discipline "Biochemistry" at a medical university. In modern society, when there is a huge amount of different information around, it is not easy to get the necessary knowledge, you need to be able to adapt to rapidly changing living conditions. The lecture remains an integral part of obtaining higher medical education.

Key words: higher medical education, lecture, biochemistry.

Среди многочисленных форм учебной работы в вузе важнейшая роль отводится лекции, которая одновременно является самым сложным видом работы и поэтому поручается наиболее квалифицированным и опытным педагогам.

Вузовская лекция — главное звено дидактического цикла обучения. Ее цель — формирование ориентировочной основы для последующего усвоения студентами учебного материала. Лекцию определяют как систематизированное изложение важных проблем науки посредством живой и хорошо организованной речи. Лекция выполняет следующие функции: информационную, стимулирующую, воспитывающую, развивающую, ориентирующую, разъясняющую, убеждающую, систематизирующую. Можно выделить различные виды лекций: по целям (учебные, просветительные, развивающие), по научному уровню (академические, популярные), по дидактическим задачам (вводные, текущие, обобщающие), по способу изложения материала (лекции-дискуссии, проблемные, лекции-конференции) [1].

В настоящее время наряду со сторонниками существуют противники лекционного изложения учебного материала. Мнение «противников» лекций как основной формы обучения в вузе:

- лекция приучает к пассивному восприятию чужих мнений, тормозит самостоятельное мышление;
- лекция отбивает вкус к самостоятельным занятиям;
- лекции нужны, если нет учебников или их мало;
- одни студенты успевают осмыслить, другие — только механически записать слова лектора [2, 5].

Основными требованиями к современной лекции являются научность, доступность, единство формы и содержания, эмоциональность изложения, органическая связь с другими видами учеб-

ных занятий, практикой повседневной жизни. Главное в лекции — это мысль, логичность, умение показать интересное в излагаемом вопросе, дать формулировки сжатые, точные и запоминающиеся, добиться подъема интеллектуальной энергии слушателей, вызвать движение мысли вслед за мыслью лектора, добиться ответной мыслительной реакции. В этом случае будет обеспечено и непроизвольное запоминание. Лекция призвана вызывать у слушателей размышления, подсказывать направление самостоятельной работы мысли, побуждать к действию, быть школой научного мышления.

Опыт показывает, что отказ от лекций снижает научный уровень подготовки студентов, нарушает системность и равномерность работы в течение семестра. Поэтому лекция по-прежнему продолжает оставаться ведущей формой организации учебного процесса в вузе [5, 6].

Дисциплина «Биохимия» включена в базовую часть программы ФГОС ВО медицинского образования, одна из фундаментальных наук, осуществляющая взаимосвязь дисциплин медико-биологического и клинического профиля, является базой для медико-биологических, профессиональных и специальных дисциплин. Основная задача дисциплины — формирование общепрофессиональных компетенций у студентов медицинских специальностей. «Биохимия» изучается студентами медицинских вузов на младших курсах. Курс по данной дисциплине достаточно объёмен и нелёгок для восприятия. Поэтому наглядность и систематизация информации в виде презентаций, схем, рисунков, таблиц облегчает восприятие и запоминание сложного для изложения материала. Модульная методика структурирования учебного материала позволяет интенсифицировать процесс обучения, экономить время, многократно повторять материал, делать процесс обучения творческим, повышать коэффициент усвоения сложного материала [3, 4].

В нашей работе мы используем как традиционные лекции (вводные, обзорные, заключительные), так и нетрадиционные формы (проблемные лекции, лекции с заранее запланированными ошибками, лекции-беседы, лекции-конференции, лекции-дискуссии). Наиболее востребованными среди студенческой аудитории мединститута оказались лекции-дискуссии, проблемные лекции и лекции-конференции.

Лекция-беседа, или «диалог с аудиторией», является наиболее распространенной и сравнительно простой формой активного вовлечения студентов в учебный процесс. Эта лекция предполагает непосредственный контакт преподавателя с аудиторией.

При изложении лекционного материала в лекции-дискуссии лектор не только использует ответы студентов на свои вопросы, но и организует свободный обмен мнениями в интервалах между логическими разделами. Дискуссия — это взаимодействие преподавателя и студентов, свободный обмен мнениями, идеями и взглядами по исследуемому вопросу. Это оживляет учебный процесс, активизирует познавательную деятельность аудитории и, что очень важно, позволяет преподавателю управлять коллективным мнением аудитории, использовать его в целях убеждения, преодоления негативных установок и ошибочных мнений некоторых студентов.

Нетрадиционная лекция-конференция с участием самих обучающихся очень интересна и познавательна не только для самих обучающихся, но и для преподавателя. Студенты показывают умение ориентироваться в огромном, сложном материале, работать с научной литературой, ставить правильно цели, решать поставленные задачи, формулировать вопросы, делать выводы и заключения. Опыт участия в лекции-конференции позволяет преподавателю и студентам отрабатывать умения задавать вопросы и отвечать на них, выходить из трудных коммуникативных ситуаций, формировать навыки доказательства и опровержения, учета позиции человека, задавшего вопрос [4].

Нами был проведен опрос студентов, обучающихся медицинского института по специальностям «Стоматология», «Лечебное дело», «Фармация», которые изучают дисциплины «Биологическая химия, биохимия полости рта» (2, 3 семестр), «Биохимия» (3, 4 семестр), «Биологическая химия» (4, 5 семестр) соответственно.

Таблица 1. Какую форму проведения лекции по биохимии Вы бы выбрали? (%)

	Традиционная лекция	Лекция-беседа	Лекция-дискуссия	Проблемная лекция	Лекция-конференция
Студенты специальности «Стоматология»	56	25	10	4	5
Студенты специальности «Лечебное дело»	45	12	14	10	19
Студенты специальности «Фармация»	30	8	15	23	24

Результаты нашей работы показали, что студенты на старших курсах (III курс «Фармация») считают наиболее интересными и востребованными лекции-конференции (24%) и проблемные лекции (23%); студенты-первокурсники (I курс «Стоматология») предпочитают лекции-беседы (25%) проблемным лекциям (4%); студенты-лечебники (II курс «Лечебное дело») готовы слушать разные лекции: лекции-беседы (12%), дискуссии (14%), конференции (19%). Следует отметить, что большинство студентов, независимо от курса, предпочли слушать традиционную лекцию (56–30%). Все студенты на вопрос «Необходима ли лекция по биохимии как форма проведения занятия по дисциплине?» ответили «Да», обращая внимание на то, что по расписанию лекция должна быть выставлена до лабораторного занятия по изучаемой теме.

Составляя ежегодно рабочие программы по дисциплинам, мы сталкиваемся с проблемой сокращения аудиторных занятий, особенно лекционных часов. Не может не волновать и вопрос чтения лекций после того, как будет проведено со студентами лабораторное занятие по данной теме, что также встречается на практике. Получается, что обучающиеся готовятся к занятию самостоятельно, а лекция теряет свою актуальность [3, 4].

Таким образом, полученные данные подтверждают тот факт, что в современном образовании, когда вокруг огромное количество различной информации, получить необходимые знания не просто, нужно уметь адаптироваться к быстро изменяющимся условиям жизни, лекции по дисциплине медико-биологического профиля «Биохимия» для студентов всех медицинских специальностей важны, сложны и очень востребованы.

Лекция остается неотъемлемой частью аудиторной работы высшего медицинского образования.

Список литературы

1. Бочаров Б.В. Некоторые вопросы педагогического мастерства и методики чтения лекции: учебно-методическое пособие. Новгородск: АГЗ МЧС РФ, 2006. 34 с.
2. Рубанов А.М., Харкевич Л.А., Иванов В.А., Егоров В.Ф., Макарова В.Н. Методические аспекты организации лекционных занятий в вузе: методические указания. Тамбов: Изд-во ГОУ ВПО ТГТУ, 2011. 52 с.
3. Яровая М.А., Таканаев А.А. Преподавание биохимии иностранным студентам в медицинском вузе // Сборник научных трудов 62 Всероссийской научно-практической конференции (ВНПК) с международным участием «Актуальные проблемы химического и экологического образования», Санкт-Петербург, 16–19 апреля 2015. С. 300–303.
4. Яровая М.А., Королева И.П., Лазарева Е.К. Лекция-конференция как форма контактной работы по «Биологической химии, биохимии полости рта» со студентами медицинского института // Сборник научных трудов 66-й Всероссийской научно-практической конференции химиков с международным участием «Актуальные проблемы химического и экологического образования», Санкт-Петербург, 18–20 апреля 2019. С. 236–240 с.
5. <http://www.orator.biz/>
6. <http://www.dissercat.com/>

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
2-й ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

**«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ
ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ
И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ»**

**Санкт-Петербург
2–3 декабря 2021 года**

Под редакцией А. В. Силина, Л. Б. Гайковой

Технические редакторы *Т.В. Руксина, Т.Н. Ефимова*

Подписано в печать 08.11.2021 г.
Формат бумаги 60×84/16. Уч.-изд. л. 16,61. Усл. печ. л. 22,5.
Тираж 50 экз. Заказ № 264.

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