

**Сервис виртуальных конференций Pax Grid**

**ИП Синяев Дмитрий Николаевич**

**Актуальные проблемы  
биохимии и бионанотехнологии**

**V Международная научная Интернет-конференция**

**Казань, 18-19 ноября 2014 года**

**Материалы конференции**

**Казань  
ИП Синяев Д. Н.  
2014**

УДК 577/579(082)  
ББК 28.4:28.72:28.707.2(2)  
А43

А43 Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологий.[Текст] : V Международная научная Интернет-конференция : материалы конф. (Казань, 18-19 ноября 2014 г.) / Сервис виртуальных конференций Pax Grid ; сост. Синяев Д. Н. - Казань : ИП Синяев Д. Н. , 2014.- 147 с.- ISBN 978-5-906217-70-7.

**ISBN:** 978-5-906217-70-7

Сборник составлен по материалам, представленным участниками V международной научной Интернет-конференции: "Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологии". Конференция прошла 18-19 ноября 2014 года.

Издание освещает вопросы медицинской и молекулярной биохимии; вопросы нанотехнологии, применительно к биохимии и бионанотехнологии; вопросы биоинформатики; представлены работы по инновационным образовательным технологиям; отражены темы, относящиеся к биохимии питания и к питанию в целом. Книга рассчитана на преподавателей, научных работников, аспирантов, учащихся соответствующих специальностей.

Материалы представлены в авторской редакции

ISBN 978-5-906217-70-7 © Система виртуальных конференций Pax Grid, 2014  
© ИП Синяев Д. Н., 2014  
© Авторы, указанные в содержании, 2014

## **Председатель оргкомитета**

Алимова Фарида Кашифовна - профессор, д.б.н., зав. кафедрой биохимии и биотехнологии Казанского (Приволжского) федерального университета

## **Программный комитет**

Абрамова Зинаида Ивановна - д.б.н., профессор (КФУ)

Багаева Татьяна Вадимовна - д.б.н., профессор (КФУ)

Темников Дмитрий Алексеевич - к.б.н., доцент (КФУ)

Невзорова Татьяна Александровна - к.б.н., доцент (КФУ)

Фаттахова Альфия Нурлимановна - к.б.н., доцент (КФУ), директор ООО НПП "Казан Университи Вивариум" (КФУ)

Акберова Наталья Ивановна - к.б.н., доцент зав. НИЛ биоинформатики и молекулярного моделирования (КФУ)

Кравцова Ольга Александровна - к.б.н., доцент (КФУ)

## **Секции конференции**

- Медицинская биохимия
- Классическая биохимия
- Молекулярная биология
- Биохимия питания
- Биотехнология
- Микробиологические производства
- Биоинформатика
- Нанотехнология
- Инновационные образовательные технологии



Исполнилось 75 лет со дня рождения профессора  
Виктора Георгиевича Винтера

**«Уже сегодня мы должны смотреть далеко вперед, за горизонты  
современной науки...»**

Виктор Георгиевич Винтер родился 7 ноября 1939 года в селе Духовницкое Саратовской области. В 1961 году окончил Семипалатинский зооветеринарный институт и до 1963 года работал ветврачом в Алтайском крае. В 1963 году поступил в аспирантуру Казанского государственного университета по специальности «микробиология». Его первые годы работы в университете связаны с проблемной лабораторией под руководством профессора М. Беляевой по исследованию нуклеиновых кислот опухолевых клеток и нуклеаз как противоопухолевых препаратов. Именно в этой лаборатории аспирантом В.Г. Винтером был впервые выявлен феномен секреции нуклеиновых кислот жизнеспособными опухолевыми клетками. Эти сенсационные данные, представленные его научным руководителем профессором М. Беляевой в 1966 году на IX Международном конгрессе в Токио, посвященном опухолевому росту, вызвали оживленную дискуссию среди ученых. Статья аспиранта В.Винтера о выходе РНК из опухолевых клеток была представлена академиком В.С. Шапотом в журнал «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины» и опубликована в 1968 году. В этом же году В.Г. Винтером была защищена кандидатская диссертация на тему: “Об участии РНК в межклеточных взаимоотношениях при опухолевом росте”. В течение ряда лет в научных кругах оппонентами оспаривалась возможность секреции РНК из живых клеток. Однако открытие выдержало проверку временем и сегодня биологическая активность внеклеточных нуклеиновых кислот является общепризнанным фактом.

После защиты кандидатской диссертации В.Винтер работал руководителем Научно-исследовательской части университета. В 1972 году он проходил научную стажировку в Оксфордском университете в Англии. В ходе научной стажировки в Великобритании им были освоены современные методы анализа нуклеиновых кислот и нуклеаз, получены интересные данные по характеристике ферментов, участвующих в обмене ДНК фага Т5. После возвращения в Казань, В. Винтер возглавил проблемную лабораторию, а в 1987 – лабораторию биохимии нуклеиновых кислот, которой руководил в течении почти 10 лет.

В.Винтер продолжает заниматься исследованиями ядерных ДНКаз и роли РНК в регуляции активности ДНКаз при различных

функциональных состояниях организма. В частности, им впервые было обнаружено наличие ДНКазной активности негистоновых белков хроматина нормальных и опухолевых клеток. В период работы в проблемной лаборатории В.Г. Винтером получен большой материал, который был оформлен в виде докторской диссертации “ДНКазы хроматина нормальных и опухолевых клеток и роль РНК в регуляции ее активности”. В 1979 году она была блестяще защищена в диссертационном Совете при Ленинградском государственном университете. Основные результаты докторской диссертации, легли в основу нового направления исследований биологической роли ядерных ДНКаз и особенностей обмена нуклеиновых кислот в нормальных и опухолевых клетках, которое реализовалось в Государственном задании, порученном Казанскому университету Госкомитетом по науке и технике на 1980-1985 гг.

Научную деятельность В.Г. Винтер успешно сочетал с педагогической работой. Начиная с 1969 года, он читал курсы лекций по общей микробиологии и вирусологии. Вел спецкурсы по совершенно новой в те годы дисциплине “Молекулярная биология”, проводил практические занятия по электронной микроскопии, разрабатывал методические пособия по изучению нуклеиновых кислот. Виктор Георгиевич внес огромный вклад в возрождение в Казанском университете кафедры биохимии, которая является старейшей кафедрой в Европе. Опираясь на свой организаторский талант, при поддержке руководства Казанского университета, он восстанавливал заброшенное помещение в старом восточном крыле университета. Большие усилия были приложены им для приведения помещения в рабочее состояние, обеспечения приборной базой, привлечения достойных преподавательских кадров. Заведующим возрожденной в 1985 году кафедры биохимии был назначен академик И.А. Тарчевский, а его заместителем - В.Г. Винтер.

С 1994 года до последних дней своей жизни В.Г. Винтер был заведующим кафедрой биохимии. Он всегда был убежден в необходимости раннего приобщения студентов к серьезной научной работе и большое внимание уделял интеграции академических институтов с Высшей школой. Именно по его инициативе в 1997 году были созданы два филиала кафедры биохимии в Институте биофизики и биохимии и в Институте органической и физической химии им. А.Е.Арбузова КНЦ РАН. Создание филиалов кафедры способствовало повышению качества подготовки выпускников, что обеспечивало им гарантированное трудоустройство по специальности. Глубокое

понимание перспективы глобальной экспансии синтетических продуктов, лекарств, биологически активных веществ в XXI веке во все сферы жизни позволило В.Г. Винтеру предвидеть возрастание социального заказа на высококвалифицированных специалистов, компетентных в вопросах конструирования и изучения молекулярных механизмов действия лекарственных средств. В связи с этим в 1998 году им была предложена программа новой специализации на кафедре по молекулярной фармакологии. Обучение на кафедре биохимии начали проводить по двум специализациям “Молекулярная биология” и “Молекулярная фармакология”.

Чрезвычайно важной заслугой Виктора Георгиевича является создание им Диссертационного Совета по биохимии и микробиологии при Казанском университете, который, его стараниями, в 2001 году получил статус Диссертационного Совета по защите докторских диссертаций. С момента создания Совета и до конца жизни В.Г. Винтер являлся бессменным председателем Диссертационного Совета, кстати, единственного по своей научной направленности в Поволжском регионе. Уникальным качеством Виктора Георгиевича как ученого и организатора была его способность видеть перспективные направления развития биологической и медицинской науки, предугадывая формирование новых, ставших сегодня актуальными, научных направлений. Это качество позволяло ему вести кафедру в авангарде биохимических исследований. В.Г.Винтер, работая со своими учениками, неоднократно отмечал, что ученому необходимо уже сегодня смотреть далеко вперед, за горизонты современной науки, чтобы завтра быть готовыми к вызовам будущего. Кафедра под руководством В.Г. Винтера всегда тесно сотрудничала с другими научными школами университета. В последние годы жизни совместно с кафедрой оптики и спектроскопии, задолго до официального признания этой области биотехнологии, Виктор Георгиевич обосновал важность открытия научного направления по разработке нанотехнологии аналитических устройств нового поколения – биосенсоров.

В 2003 г. в рамках мероприятий, приуроченных к двухсотлетию Казанского университета, при активном участии проф. В.Г. Винтера была организована и проведена междисциплинарная объединённая Международная научная конференция «Новая Геометрия Природы» (“GeoN-Kazan-2003”), которая подвела фундаментальные итоги прошедшего научного столетия и сформировала дальнейшее концептуальное видение развития университетской науки. Последние выдающиеся достижения науки и технологий, намечающие путь от

профессиональных достижений в математике, механике, физике, химии, нано- и информационных технологиях к биологическим наукам, биотехнологиям, фундаментальной медицине и иммунологии, нашли своё отражение в обширной научной программе конференции. Было представлено 364 доклада авторов из 59 городов РФ и стран дальнего и ближнего зарубежья. География их разнообразна: США, Япония, Франция, Германия, Канада, Великобритания, Швеция, Новая Зеландия, Португалия, Финляндия, Польша, Испания, Югославия, Турция, Азербайджан, Казахстан, Грузия, Армения. К конференции было издано три тома научных трудов: «Математика и Геофизика», «Биология», «Астрономия, Образование, Философия» общим объемом более 1200 страниц.

В.Г. Винтер являлся членом президиума Всероссийского общества цитологов и иммунологов, Научного Совета по химии и технологии возобновляемого растительного сырья. В 2005 году ему было присвоено звание Заслуженного работника Высшей школы Республики Татарстан. Все ученики Виктора Георгиевича, коллектив кафедры биохимии и биотехнологии Казанского университета с благодарностью вспоминают своего наставника и руководителя, отдавая дань уважения его профессионализму, научной прозорливости и человечности.

*От имени коллектива кафедры биохимии и биотехнологии,  
Фарида Алимова, зав.кафедрой  
Зинаида Абрамова, профессор  
Наталья Акберова, доцент  
Дмитрий Темников, доцент*

## **ФЛУОРОГЕННЫЕ ИНДИКАТОРЫ ДЛЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ АФК: ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ**

Абдрахимова Й.Р., Абдрахимов Ф.А., Шугаев А.Г.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва,  
ФГОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
Казань

ФГБУН Институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

*54621daccda0*

Исследования метаболизма активных форм кислорода (АФК) находятся на переднем крае биологических и биомедицинских наук последних десятилетий благодаря множественной роли, которая отводится им в разных аспектах жизнедеятельности клеток, от деления до смерти [1]. По данным базы Scopus, за 2013г. вышло более 10 000 публикаций, посвященных проблемам генерации АФК, причем за последние 10 лет их количество возросло более чем втрое, оставаясь почти в равных соотношениях в области медицины и биологии, в первую очередь биохимии. Этот факт указывает на то, что изучение процессов генерации и удаления АФК клетками имеет принципиальное значение не только для развития теоретических основ концепций клеточного сигналинга, стресса и старения, но и разработки практических подходов для контроля множества АФК-индуцированных патофизиологических состояний и заболеваний [1]. Несмотря на расшифровку важных деталей метаболизма АФК, общая картина процессов во многом не ясна, а иногда и противоречива. Так, до сих пор спорными остаются вопросы о внутриклеточных сайтах генерации АФК, особенно что касается митохондрий - мнения расходятся от признания их главными источниками вплоть до полного отрицания. При этом следует отметить, что абсолютные величины скорости образования АФК, приведенные в литературе для митохондрий из сходных объектов, отличаются на порядки (см [2]). С одной стороны, это может быть связано с методическими трудностями в адекватной оценке скорости образования АФК, обусловленными рядом причин, в частности низкими внутриклеточными концентрациями АФК, транзитным характером их изменений и относительно коротким периодом жизни, а также наличием системы «хорошо эшелонированной» антиоксидантной защиты как отдельных органоидов, так и клеток в целом, которые, в свою очередь,

могут «маскировать» общую картину. С другой стороны, следует учитывать те ограничения, которые накладывают физико-химические особенности самих АФК-детектирующих систем, основными компонентами которых в подавляющем большинстве случаев служат флуоресцентные красители [2-4]. В первую очередь это касается наиболее широко и давно (более 30 лет) используемых красителей из группы дихлорофлуоресцеинов. Известно, что ацетилированная восстановленная форма - дихлородигидрофлуоресцеин диацетат ( $H_2$  DCF-DA) легко проникает через клеточные барьеры, деацетируется цитозольными эстеразами, превращаясь в  $H_2$ DCF, который, в свою очередь, окисляется в интенсивно флуоресцирующий DCF, чье свечение и регистрируется в конечном счете (Рис.1). Среди прочих недостатков, оказалось, что DCF может инициировать дополнительное образование АФК, приводящее к переоценке изучаемых показателей [3,4].

Среди относительно новых индикаторов для внутриклеточного детектирования АФК заслуживает внимания созданное около 10 лет назад митохондрии-таргетированное производное дигидроэтидия (*dihydroethidium*, DHE), получившее название митосокс (*mitoSOX*, [3]). Считается, что *mitoSOX*, конъюгат DHE с трифенилфосфониум-катионом, высоко специфичен по отношению именно к супероксид-аниону ( $O_2^{\cdot-}$ ) митохондриального происхождения, тогда как DHE - цитоплазматического [3]. Это отличает их от красителей дихлорофлуоресцеинового ряда, которые в большей степени реагируют с незаряженной формой АФК - пероксидом водорода [3,4]. Целью нашего исследования было сравнить возможности использования данных красителей для внутриклеточного детектирования различных форм АФК. Объектом исследований служили полевые растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с.Мироновская 808), а также этиолированные проростки, выращенные гидропонным способом при 23-24°C в течение 3 суток. Образование АФК в клетках регистрировали по флуоресценции DCF и продукта *mitoSOX* (Invitrogen) на лазерном конфокальном микроскопе LSM 510 META (Carl Zeiss, Германия); длины волн возбуждения составляли 488 нм и 514нм, эмиссии - 505-550нм и 560-600 нм, соответственно.

Используя  $H_2$ DCF-DA, нами получены релевантные данные по локализации красителя в клетках колеотилей (Рис.1) и узлов кущения озимой пшеницы (не показано). Флуоресцирующий продукт - DCF - детектировался исключительно внутри клеток, но его свечение в основном было связано с ядром и трансвакуолярными тяжами цитоплазмы, с которыми часто ассоциированы дискретные органеллы -

пропластиды, пероксисомы и митохондрии. Использование же mitoSOX не дало удовлетворительных результатов по выявлению внутриклеточной локализации сайтов свечения деривата DHE (Рис.2). Краска интенсивно окрашивала апопласт, по-видимому, из-за аккумуляции катионов красителя отрицательно заряженными карбоксильными группировками клеточной стенки, что приводило к высоким фоновым значениям флуоресценции (Рис. 2). Таким образом, визуальный анализ свечения использованных красителей, а также расчет относительной доли флуоресценции отдельных органелл и структур не позволили однозначно отнести митохондрии к основным источникам генерации АФК в клетках нефотосинтезирующих тканей пшеницы.

***Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (проект №13-04-01828).***

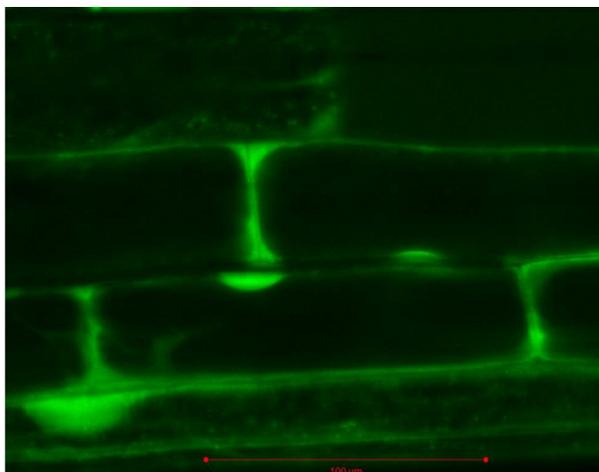


Рис. 1. Локализация флуоресценции DCF в клетках coleoptила пшеницы

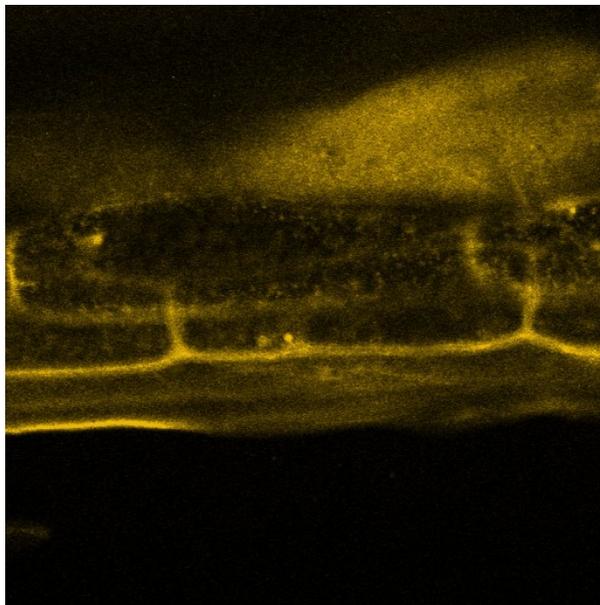


Рис. 2. Свечение продукта mitoSOX в клетках узлов кушения пшеницы

### **Литература**

1. Brieger et al. Reactive oxygen species: from health to disease// Swiss Med Wkly. 2012; 142: w13659.
2. Абдрахимова Й.Р., Андреев И.М., Шугаев А.Г. Определение скорости генерации АФК в митохондриях растений invitro с помощью флуоресцентных индикаторов: неспецифические эффекты ингибиторов терминальных оксидаз // Физиология растений. 2015. Т.62, №1. С.146-152.
3. Kalyanaraman B. et al. Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges and limitations // Free Radic.Biol.Med. 2012. V.52. P.1-6.
4. Winterbourn C.C. The challenges of using fluorescent probes to detect and quantify specific reactive oxygen species in living cells // BBA. 2014. V. 1840. P.730-738.

## **ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРИСТЫХ МАТРИКСОВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИГИДРОКСИБУТИРАТА**

Акулина Е.А., Кузнецова Е.С., Жаркова И.И., Бонарцева Г.А.,  
Бонарцев А.П.

Институт биохимии им А.Н. Баха РАН,  
Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

*545cdf3ecd735*

Полигидроксibuтират (ПГБ) — полимер, получаемый биотехнологическим путем, который в перспективе может использоваться в медицине и фармацевтике. Изучение ПГБ является актуальным, так как он обладает такими свойствами как биоразлагаемость и биосовместимость, что позволяет использовать его в качестве основы для культивирования клеток.

Для биосинтеза полимера использовался высокоэффективный штамм-продуцент *azotobacter chroococcum* 7В.

Матриксy, полученные методом выщелачивания с использованием сахарозы и карбоната аммония в качестве порообразователей, были исследованы на предмет пористости, адсорбции белка и цитотоксичности.

Методика, основанная на принципе выщелачивания, позволяет получить матриксy, заданной 3D-формы, с макро- и микропорами размеров в 180–200 мкм и 15-17 нм, и общей пористостью до 90%.

Было также проведено исследование на обратимую и необратимую адсорбцию белка с помощью метода конфокальной микроскопии и метода Бредфорда. В качестве модельного белка при исследовании на конфокальном микроскопе был взят ФИТЦ-меченый альбумин. Полученные изображения продемонстрировали, что белок равномерно распределяется и адсорбируется на матриксе, однако при отмывании додецилсульфатом натрия практически полностью десорбируется, что свидетельствует об обратимой адсорбции белка на матриксах. При исследовании методом Бредфорда в качестве модельного белка был взят бычий сывороточный альбумин. Полученные данные также показали наличие обратимой и необратимой адсорбции.

Полученные матриксy были исследованы на биосовместимость с использованием мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из костного мозга крыс. Для оценки жизнеспособности клеток

использовался стандартный метод ХТТ, который показал, что матриксы не обладают цитотоксичностью, и с течением времени количество клеток на трехмерных конструкциях увеличивается.

Таким образом, разработанную технологию получения трехмерных пористых матриксов из поли-3-оксибутирата можно использовать в тканевой инженерии, например, для регенерации костной ткани.

---

**У КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (ЛИНИЯ SHR) ПРИ  
ДЕЙСТВИИ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ мРНК  
NAP-22 В ТЕМЕННОЙ КОРЕ ЗАВИСИТ ОТ СОДЕРЖАНИЯ  
КАЛЬЦИЯ В ДИЕТЕ**

Альдекеева А.С., Корнева Н.А., Петрова Е.И., Руденко Е.Д.,  
Чернышев Ю.И., Клюева Н.З.

ФБГУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,  
ФБГУН Институт аналитического приборостроения РАН

54638ed116b30

У крыс линии SHR наблюдаются, наряду с гипертензией, нарушения в деятельности различных отделов головного мозга [1]. Особый интерес представляют изменения, происходящие в теменной коре. Общеизвестно, что в клетках этих животных наблюдается долговременное повышение концентрации свободного кальция в цитозоле вследствие генетически детерминированных нарушений его обмена, что приводит к запуску каскадов внутриклеточной сигнализации, связанных с активацией протеинкиназы С (ПКС). Один из ведущих патогенных факторов для крыс этой линии - избыточное потребление NaCl в течение длительного времени. Ранее мы показали, что в таких условиях в нейронах начинает функционировать белок NAP-22 и другие мажорные субстраты ПКС. Многолетнее изучение показало, что формирование спонтанной гипертензии тесно связано с уровнем потребления экзогенного кальция [2]. Поэтому исследовались изменения уровня экспрессии мРНК NAP-22 в теменной коре крыс линии SHR после солевой нагрузки, действовавшей на фоне нормального или сниженного потребления Ca.

Животные содержались на стандартной (по нормам ВОЗ) или маломинерализованной питьевой воде, и в возрасте 90 дней часть из них в течение 10 дней получали 1%-ный раствор NaCl. После этого их декапитировали для забора теменной коры. Выделение тотальной РНК NAP-22 осуществлялось с помощью набора Quick-RNATM MiniPrep (Zymo-Research). Затем проводилась обратная транскрипция. Полученный продукт анализировали методом ПЦР в реальном времени.

На рис. 1 видно, что у крыс линии SHR при дефиците потребления Ca в нейронах теменной коры наблюдается максимальный уровень экспрессии мРНК NAP-22. На этом фоне солевая нагрузка вызывала достоверный, но менее выраженный рост этого показателя

(относительно SHR контроль). При предъявлении солевой нагрузки животным, которые в течении нескольких поколений получали достаточное количество кальция, экспрессия мРНК NAP-22 существенно снижалась, что может свидетельствовать об ослаблении патологических процессов, вызванных солевой нагрузкой, в нейронах теменной коры.

У крыс линии WKY генетически детерминированные изменения обмена Ca в клетке выражены мало или отсутствуют. Однако солевая нагрузка в сочетании с дефицитом экзогенного Ca вызывала увеличение уровня экспрессии мРНК NAP-22 и у них, хотя в значительно меньшей степени (рис. 2). При достаточном поступлении Ca в организм уровень экспрессии мРНК NAP-22 существенно снижался, также достигая уровня контрольных значений.

При сопоставлении реакций на солевую нагрузку в нейронах теменной коры нормотензивных крыс и крыс со спонтанной гипертензией (рис. 3), очевидно, что в обоих случаях такое неблагоприятное воздействие на организм, как длительная солевая нагрузка, вызывает активацию каскадов внутриклеточного сигнала, связанных с ПКС, и повышение экспрессии большинства её мажорных субстратов. Увеличение потребления экзогенного Ca в этих условиях значительно сильнее (в абсолютных значениях) снижает уровень экспрессии мРНК NAP-22, который можно рассматривать как показатель выраженности неблагоприятных изменений в нейронах у взрослых животных, у крыс SHR. Это подтверждает большое значение уровня потребления экзогенного Ca в патогенезе Ca-зависимых форм артериальной гипертензии и СДВГА и ключевую роль этого фактора в степени развития тяжелых повреждений в клетках при дополнительных неблагоприятных воздействиях на организм при таких патологиях.

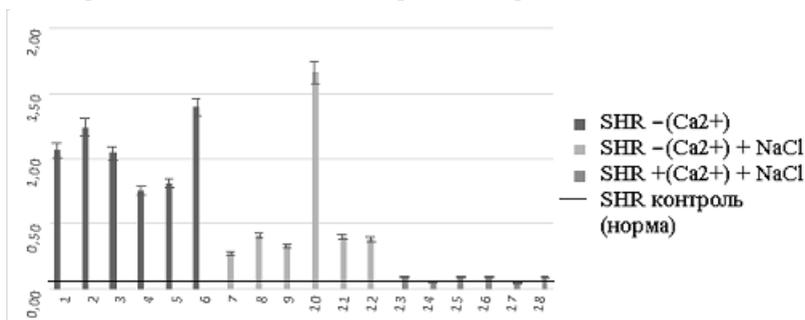


Рис. 1. Уровень экспрессии мРНК NAP-22 в теменной коре крыс линии SHR

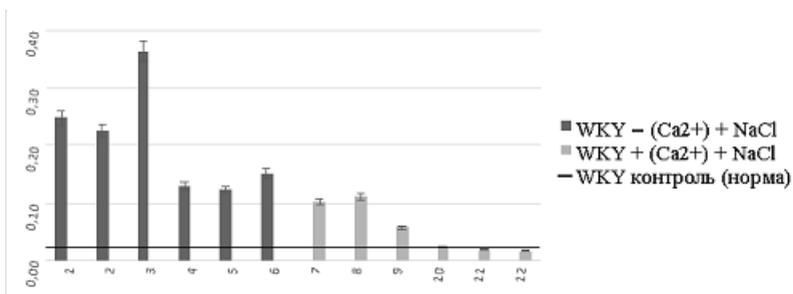


Рис. 2. Уровень экспрессии МРНК NAP-22 в теменной коре крыс линии WKY

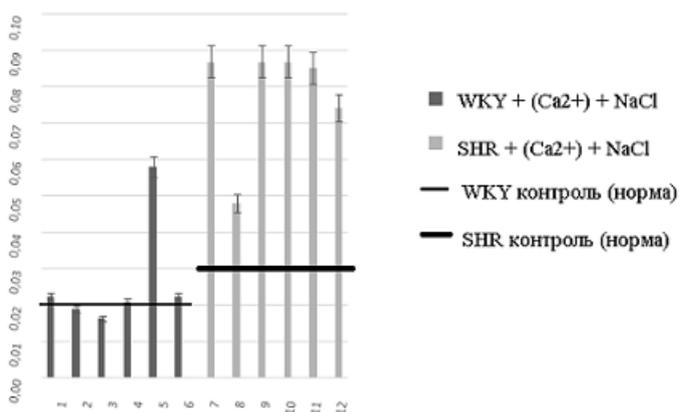


Рис. 3. Уровень экспрессии МРНК NAP-22 в теменной коре крыс линий SHR и WKY

## Литература

1. Kantak KM, Singh T, Kerstetter KA et al. Advancing the Spontaneous Hypertensive Rat Model of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder//Behavioral Neuroscience. -2008. -Vol.122. 2, p. 340-357.
2. Постнов Ю.В. О роли кальциевой перегрузки митохондрий и энергетического дефицита в патогенезе первичной артериальной гипертензии//Арх.Пат. - 2001. -Т. 3. - с. 3-10.

## **МИП «МЕХАНОХИМИЧЕСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ» - ОТ ИДЕИ ДО ПРОДУКЦИИ**

Аньшакова В.В., Уваров Д.М., Смагулова А.Ш., Степанова А.В.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова

544de62b832ae

Одними из самых актуальных проблем Арктических территорий России, особенно её азиатской части, являются:

- очень низкий уровень заселённости, особенно сельским населением, основную часть которого представляют коренные этносы;
- всё ухудшающееся здоровье населения;
- низкая рентабельность основных направлений экономики сельскохозяйственного производства - оленеводства, коневодства - вследствие колоссальной транспортной составляющей рыночной стоимости основного конечного продукта - мяса, и как следствие, дефицит рабочих мест в сельских улусах и низкий уровень платы труда.

В решении всего этого комплекса ключевых, с точки зрения развития северных территорий России, проблем могут помочь новейшие биотехнологии направленные на производство конечных продуктов высокой рыночной стоимости и потребительской ценности, с заданными свойствами (лечебной и профилактической направленности) из возобновляемого северного растительного сырья.

В сентябре 2012 г. в Северо-Восточном федеральном университете создано малое инновационное предприятие (МИП) «Механохимические биотехнологии», основными видом деятельности которого является разработка современных механохимических биотехнологий переработки уникальных для Северо-Востока России видов биологического и органического сырья, ориентированных на получение новых твердофазных биопрепаратов медицинского и пищевого назначения и их опытно-промышленное производство.

*Инновационными особенностями МИП являются:*

- Использование северного биосырья с повышенным содержанием и более широким спектром разнообразия биологически активных веществ (БАВ);
- Использование современных физико-химических механохимических биотехнологий, которые позволяют без потерь, наиболее экономичными и экологичными способами извлекать соответствующие комплексы БАВ

из природного сырья, получать из недорогого сырья конечные продукты высокой рыночной и потребительской стоимости.

· Получение твердых дисперсных систем – композитов «лекарственное вещество-носитель». Механохимическое комплексообразование позволяет существенно повысить биодоступность, пролонгированность многих лекарственных средств, снизить их токсичность.

Ноу-хау заключается в применении механохимической нанобиотехнологии обработки растительного сырья с небольшими добавками твердофазных химических реагентов. Ударно-истирающее воздействие сопровождается наряду с разрушением клеточных стенок и изменением химического состава компонентов растительного сырья из-за разрыва ряда химических связей, даже таких прочных, как  $\beta$ -гликозидных. На образующуюся в технологическом процессе углеводную часть – (олигосахариды из лишенина) мы «насаживаем» различные БАВ, к примеру, витаминно-минеральные комплексы, известные фармпрепараты, БАВ лекарственных растений.

Преимущества лишайниковых b-олигосахаридов, как «активного наполнителя» и «транспортного средства» для БАВ налицо:

- хорошая всасываемость из желудочно-кишечного тракта в кровь, благодаря своему бифильному строению и размерам;
- легкая транспортируемость через клеточные мембраны за счет своих размеров и того, что по структуре они являются аналогами олигогликозидных фрагментов гликокаликса клеточных мембран;
- высокая стерильность межмолекулярного комплекса за счет природных лишайниковых кислот, проявляющих антибактериальные свойства;
- спектр фармакологической активности наполнителя дополнен детоксикационной функцией, будучи активным сорбентом, он одновременно элиминирует из организма экзо- и эндотоксины различной этиологии.

Конкурентными преимуществами механохимической биотехнологии являются:

- Низкая себестоимость (в 50-100 раз) разработки и внедрения систем доставки действующего вещества по сравнению с химическим, биотехнологическим синтезом и скринингом новых лекарств.

- Ускоренные клинические испытания и регистрация систем доставки изученных БАВ, ускоренный выход на рынок.

- Высокая эффективность (в 2-3 раза) действующего вещества, включенного в биоконкомплекс с олигосахаридами по сравнению с

существующими лекарственными формами, уменьшение сроков лечения и затрат здравоохранения.

-Низкая токсичность (в 3-5 раз) БАВ, уменьшение затрат здравоохранения на лечение побочных эффектов.

Результатами интеллектуальной деятельности сотрудников являются 8 патентов РФ, 1 ноу-хау и 2 свидетельства о государственной регистрации.

#### *Продукция МИП:*

Организован выпуск линейки твердофазных биологически активных добавок к пище в мелкосерийном масштабе: «Ягель порошкообразный ультрадисперсный», "Ягель - Детокс" [1] в двух формах: порошок и капсулы, также разработаны опытно-промышленные образцы твердых форм биологически активных добавок к пище: "Кладород", "Витаягель", «Вивлан», произведенных на основе слоевищ лишайников *p. Cladonia* механохимической биотехнологией, обладающих одновременно универсальным детоксикационным действием и высокоэффективным биологическим (в том числе терапевтическим) действием широкого спектра - антибактериального, адаптогенного, актопротекторного, гипогликемического, и др. при сниженных дозах. Вся продукция производится на основе сырья для БАД "Ягель порошкообразный ультрадисперсный" [2] по утвержденным нормативным регламентам и готова к реализации и имеет полную разрешительную документацию.

Совместно с медицинским институтом нами проведены клинические испытания БАД «Ягель Детокс» на биохимические показатели крови. Результаты анализа крови пациентов с исходно повышенным уровнем глюкозы и холестерина после трехнедельного приема препарата подтверждают, что статистически значимо снижается уровень глюкозы, холестерина и коэффициента атерогенности. Исследуемый БАД может рассматриваться как профилактическое средство, наряду со стандартной терапией, для снижения риска сердечно-сосудистых осложнений при сахарном диабете второго типа.

В пищевой промышленности БАД «Ягель Детокс» используется при производстве нового сорта хлеба «Полярный», выпускаемый ООО «Айгуль». Продукт пользуется успехом у горожан и отличается не только повышенным сроком годности, но и оздоровительной направленностью.

БАД «Кладород» прошел испытания у членов сборной Республики Саха по вольной борьбе, где отмечено достоверное повышение уровня тренированности и адаптированности у спортсменов в 3-4 раза [3, 4].

За 2013 - 2014 гг разработки МИП удостоены 6 грантов,

награждены тремя золотыми и двумя серебряными медалями на высокопрестижных международных конкурсах и выставках (Международная ярмарка изобретений SIIF 2013, Ю. Корея; XXIV Харбинская международная торгово-экономическая ярмарка КНР и др.

Развитие МИП, внедрение в производство биотехнологических разработок на Севере содействует расширенному воспроизводству в природных условиях тундры, тайги и в культуре видов растений, которые могут использоваться в качестве биологического сырья. позволит повысить занятость и сельского населения Северо-Востока России и способствовать повышению уровня здоровья населения, благодаря разработанной продукции.

## **Литература**

1. Свидетельство о Государственной регистрации в странах ЕВРАЗЭС на биологически активную добавку к пище "ЯГЕЛЬ ДЕТОКС" № RU.77.99.11.003.Е.003704.05.13 от 20.05.2013
2. Свидетельство о Государственной регистрации в странах ЕВРАЗЭС на продукцию "Ягель порошокобразный ультрадисперсный" № RU.77.99.11.003.Е.003705.05.13 от 20.05.2013.
3. Аньшакова В.В., Кершенгольц Б.М. Биологически активная добавка актопротекторного, адаптогенного действия из растительного сырья и способ ее получения // Патент RU № 2477143 С1 от 26.10. 2011. Дата выдачи 10 марта 2013 г.
4. Аньшакова В.В. «Биотехнологическая механохимическая переработка лишайников рода *Cladonia*» (монография). - М.: Издательский дом Академии Естествознания, 2013. -116 с.

## СОДЕРЖАНИЕ ВИТАМИНОВ С И Р В СБОРАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ТРАВ

Асакова Е.Н., Морева Д.А., Гришина О.В., Гарусова Е.В.

ГБОУ ВПО Ивановская государственная медицинская академия  
Минздрава РФ, Иваново

5458908561f16

Роль витаминов С и Р в жизнедеятельности организма чрезвычайно многообразна и значима. Являясь синергистами, они участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, лежащих в основе пластических и энергетических процессов, обеспечивают реализацию механизмов защиты от действия неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды, способствуют поддержанию нормального состояния соединительной ткани. Именно поэтому на их наличие в лекарственных травяных сборах, применяемых при сопутствующей терапии ряда заболеваний, а также в биочаях, используемых при комплексном подходе к снижению массы тела, указывается обязательно.

**Целью** нашей работы явилось изучение количественного содержания витаминов С и Р в сборах лекарственных трав. В ходе исследования решались следующие задачи: определить содержание аскорбиновой кислоты и рутина в 12 сборах лекарственных трав ("Фитодиабетон", "Фитопростат", "Мастофитон", "Эвалар Био для почек", "Эвалар Био для сердца и сосудов", "Для улучшения зрения", "Тибетский", "Эвалар Био для контроля аппетита", "SantiMin", "Худеем за неделю", "Грин Слим" с ароматом лимона, "Супер Слим" с ароматом клубники); оценить соотношение количества витаминов в сборах различного назначения; определить возможность покрытия суточной потребности в витаминах использованием данных сборов. Количественное определение витамина С проводилось с помощью титрометрического метода Тильманса, витамина Р - титрометрического метода Левенталья. Полученные результаты сведены в таблицу 1.

Содержание рутина во всех образцах сборов было меньше количества аскорбата и приближалось к оптимальному соотношению, обуславливающее наиболее эффективное усвоение и действие витаминов в тканях (1:5) в сборах «Эвалар Био для почек», «Эвалар Био для контроля аппетита», «Эвалар Био для сердца и сосудов» и «ГринСлим». В линейке фиточаев содержание рутина отражается зависимостью:

«Эвалар Био для почек»>«ГринСлим»>«Эвалар Био для контроля аппетита»>«Эвалар Био для сердца и сосудов»>«Худеем за неделю»>«Фитопростат»>«SantiMin»>«Тибетский»>«СуперСлим»>«Для улучшения зрения»>«Фитодиабетон»>«Мастофитон». Максимальное содержание рутина отмечалось в фиточаях «Эвалар Био для сердца и сосудов», «ГринСлим» и «ЭваларБио для почек», в состав которых включены зелёный чай, листья чёрной смородины, листья земляники, листья перечной мяты. Минимальное содержание витамина Р отмечено в чаях «Мастофитон», «Для улучшения зрения», «Фитодиабетон».

Таблтца 1. Содержание витаминов С и Р в фитосборах.

Торговое название сбора	Содержание витамина Р, мг%	Содержание витамина С, мг%	Соотношение содержания витаминов Р и С
“Фитодиабетон “	3,47±1,22	51,3±12,7	1:14,8
“Фитопростат”	6,4±1,6	124,7±10,3	1:19,5
“Мастофитон”	3,20±0,8	80,7±14,3	1:25,2
“Эвалар БИО для почек”	14,67±1,05	80,7±12,7	1:5,5
“Эвалар БИО для сердца и сосудов”	8,8±0,8	73,3±10,7	1:8,3
“Для улучшения зрения”	3,47±1,20	58,7±9,4	1:16,9
“Тибетский”	4,27±0,92	132,0±15,4	1:30
Фитосборы для коррекции массы тела			
“Эвалар БИО для контроля аппетита”	9,6±1,60	66,0±2,20	1:7
“SantiMin”	5,6±0,8	-	-
“Худеем за неделю”	7,47±0,46	1826,4±22,0	1:245
“Грин Слим” с ароматом лимона	10,0±1,39	102,7±12,7	1:10
“Супер Слим” с ароматом клубники	3,6±0,45	-	-

Максимальное содержание аскорбиновой кислоты (>100мг/100г сухого сырья) отмечено в чаях «ГринСлим», «Фитопростат» и «Тибетский», в составе которых заявлены богатые витамином трава зверобоя, листья мяты перечной, шишки хмеля, цветки ноготков, кора крушины, цветки ромашки, почки берёзовые, цветки бессмертника

песчаного; минимальное - в чаях «Фитодиабетон» и «Фиточай для улучшения зрения». В линейке фиточаев содержание витамина С отражается зависимостью: «Тибетский»>«Фитопростат»>«ГринСлим»>«Эвалар Био для почек», «Мастофитон»>«Эвалар Био для сердца и сосудов»>«Эвалар Био для контроля аппетита»>«Для улучшения зрения»>«Фитодиабетон». Содержание витамина С повышено при наличии добавок в фиточаях (ароматизатор "лимон").

В линейке сборов, используемых для снижения массы тела, отмечено повышенное содержание обоих витаминов, однако чаи «СуперСлим» и «SantiMin» не могут быть дополнительными источниками флавоноидов ввиду их малого содержания.

## **ПРЕДСКАЗАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ МОДЕЛИ CFR БЕЛКА STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

Аюпов Р.Х., Акберова Н.И

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
Казань, Россия

546368686fbee

Белок CFR (chloramphenicol & florfenicol resistance) - метилтрансфераза, фермент катализирующий реакцию метилирования азотистого основания аденозинового остатка в положении 2503 большой субъединицы рРНК [1]. В ходе метилирования рРНК перестает быть мишенью антибиотиков и *S. aureus* приобретает устойчивость к их действию [2]. Данный белок представлен в геноме у родственных бактерий: *S. sciuri*, *S. warneri*. А также у других бактерий: *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum*, *Bacillus clausii*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium phytofermentans* [3].

Поиск гомологичных аминокислотных последовательностей в Blast показал наличие двух последовательностей *E. coli* с экспериментально определенными структурами (идентификаторы в PDB: 3RF9.pdb и 3RFA.pdb). Было проведено множественное выравнивание аминокислотных последовательностей данных белков с последовательностью CFR (gi 205829896). Результаты выравнивания показывают, что данные белки имеют множество схожих участков.

Для предсказания модели использовали следующие программы: FUGUE, MUSTER, Robetta, I-Tasser, SWISS-MODEL, PSIPred, Phyre2, HHPRED. Полный список программ для предсказания пространственных моделей структур расположен на сайте ExPASy [4]. Каждая программа выдает от 1 до 10 различных моделей белка. Качество предсказанных моделей анализировали с использованием программы Qmean [5]. Наилучшей структурой оказалась одна из пяти моделей CFR, предсказанная программой Robetta. Предсказанную модель белка предполагается использовать в дальнейшей работе по моделированию структурного взаимодействия с различными лигандами в ходе разработки ингибиторов метилазы CFR .

## **Литература**

1. A radically different mechanism for S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases // Grove T.L., et. al. - Science 332:604-607(2011)
2. First report of cfr-mediated resistance to linezolid in human staphylococcal clinical isolates recovered in the United States // Mendes R.E., et. al. - Antimicrob. Agents Chemother. 52:2244-2246(2008)
3. <http://enzyme.expasy.org/EC/2.1.1.224>
4. <http://www.expasy.org/tools/>
5. <http://swissmodel.expasy.org/qmean/cgi/index.cgi>

## **РАЗЛИЧИЯ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ГЕПАТОЦИТОВ, КУЛЬТИВИРОВАННЫХ НА ИСКУССТВЕННЫХ МАТРИЦАХ**

Ахмадеева Л.А., Белините М.А., Фаттахова А.Н.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
Казань, Россия

5444edfb53f00

**Целью** нашей работы явилась выявление различий в биохимическом составе клеток, культивированных на искусственных матрицах. Матрицы различаются по времени обработки ионно - лучевым методом.

Клетки для культивирования выделяли из ткани печени мышей линии CD – 1. Выделение проводили методом двухступенчатой местной перфузии. Промывали печень через портальную вену сначала раствором HBS, затем тем же раствором с добавлением кальция. Очистили клетки от соединительной ткани центрифугированием. Жизнеспособность гепатоцитов оценили методом окрашивания трипановым синим. Выделенные клетки культивировали на матрицах с разным временем обработки в течение 5 дней. За ростом клеток наблюдали через световой инвертированный микроскоп при увеличении 20 и 40. Для дальнейшего исследования, гепатоциты разрушили ультразвуком. Концентрацию белков измерили с помощью NanoDrop 2000. Затем провели электрофорез в денатурирующих условиях.

После 5 дней культивирования обнаружили, что количество клеток, культивированных на модифицированном стекле, значительно больше, чем на гладком контрольном. На 3 сутки клетки начали образовывать агрегаты. Матрица на основе модифицированного стекла экологически безопасна, не требует дорогих методов стерилизации. Установили, что на стеклах, обработанных в течение 30 минут, клетки растут значительно лучше, чем на стеклах, обработанных 5, 10 и 20 минут.

После проведения электрофореза в денатурирующих условиях обнаружили, что в клетках, культивированных на модифицированных стеклах, обнаружили белки с молекулярной массой 40 кДа. Наибольшая концентрация этих белков обнаружена в клетках, культивированных на матрицах с обработкой 30 минут. Следовательно, возникло предположение о наличии белков адгезии с этой молекулярной массой.

Проведенное исследование позволило сделать вывод об эффективности культивирования гепатоцитов на модифицированном стекле.

---

## СОДЕРЖАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНДУКТОРОВ КЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ В КОРНЕВОЙ СИСТЕМЕ *FILIPENDULA VULGARIS MOENCH*

Баширова Р.М., Галкин Е.Г., Фаттахов А.Х., Мустафин А.Г.

Башкирский государственный университет,  
Институт органической химии УНЦ РАН

545ba6fee4c2f

Одним из популярнейших пищевых и лекарственных растений Урала и Поволжья был лабазник степной *Filipendula vulgaris* Moench. (syn. *Filipendula hexapetala* Glib ex Maxim.). Это единственный представитель сем. *Rosaceae*, образующий богатые крахмалом корневые клубеньки, используемые как диуретическое, общеукрепляющее, антиспастическое средство при злокачественных опухолях. Отвар клубеньков оказывает противоязвенное, сосудоукрепляющее, протистоцидное, противовоспалительное, седативное действия, повышает детоксикационную функцию печени, ускоряет регенерацию кожи и тканей желудка. Клубеньки *F. vulgaris* входят в противоопухолевый сбор по прописи М. Н. Здренко [1].

Предпринимались попытки введения *F. vulgaris* в культуру [2, 3]. Сухая масса подземных органов лабазника на второй год выращивания достигала 315 г [4]. Поскольку основная масса физиологически активных соединений сосредоточена в клубеньках, то аграриев интересует технология получения сырья с максимальной массой именно этих органов. Для этого необходима идентификация индукторов клубнеобразования (КО), повышающих продуктивность наиболее ценной части урожая.

В литературе рассматривается множество факторов, влияющих на клубнеобразование таких культур, как картофель *Solanum tuberosum*, топинамбур *Helianthus tuberosus*, *Dioscorea spp.* и *Paeonia spp.* В КО картофеля принимают участие все известные фитогормоны, особую роль в процессе формирования клубней играют цитокинины и АБК, усиливающие этот процесс.

В качестве индукторов КО *in vitro* могут выступать такие соединения, как кумарины, производные салициловой [5, 6] и гидроксикоричных кислот [7]. Так, показана способность экзогенного ксантотоксина подавлять ауксиновую активность столонов картофеля. Некоторые

авторы представляют сведения о возможном участии в индукции этого процесса у картофеля наряду с гликоалкалоидом — соланином, экзогенных кумаринов [5]. Вместе с тем при изложении результатов не указывается конкретный вид кумаринов, использованных в эксперименте. В настоящее время известно более тысячи видов кумариновых структур, различающихся по биологической активности [8].

Мы предположили, что индуктор КО следует искать в составе соединений присутствующих в клубнях, но отсутствующих в корнях *F. vulgaris*.

Учитывая изложенное, нами проведено сравнения содержания потенциальных индукторов клубнеобразования— салицилатов и кумаринов в клубеньках и корневищах лабазника.

Исследования проведены на образцах *F. vulgaris*, собранных в период наиболее активного клубнеобразования.

Потенциальные индукторы экстрагировали из сырья 96% этанолом. Спиртовые экстракты анализировали с применением хромато-масс-спектрометра Thermo Finnigan.

Разделение компонент: колонка капиллярная —длина 30 м, 0.25мм -диаметр, привитая фаза содержащая 5% диметилфенилсиликона и 95% диметилсиликона. Программированный нагрев хромато-графической колонки: начальная температура -5°C , подъем температуры до 280°C, скорость подъема 10°/мин. Температура инжектора —270°C (постоянный поток). Идентификацию компонентного состава проводили по полным масс-спектрам с использованием библиотеки NIST05.

Относительное содержание компонентов смеси (количественный анализ) оценивали по соотношению площадей хроматографических пиков (простая нормировка).

**Результаты исследований и их обсуждение.** В спиртовом экстракте клубней идентифицировано 24 соединения, в экстракте корней —17. В таблице приведены данные только по содержанию производных салициловой кислоты и кумаринов.

Таким образом, в составе клубеньков отмечается два кумариновых соединения и 4 производных салициловой кислоты, полностью отсутствующих или присутствующих в значительно менее низких концентрациях в корневищах. Это: 4-бензилоксибензойная кислота, метилсалицилат, салициловый спирт, в сумме, составляющие 17,71% от содержания веществ экстрагируемых спиртом.

Таблица 1. Содержание фенольных соединений в спиртовых экстрактах клубеньков и корневищ *Filipendula vulgaris* (% от суммы выделенных соединений)

№№ п/п	Фенольное соединение	Экстракт клубней	Экстракт корневищ,
1.	4-бензилоксibenзойная кислота	1,15	Н.в.
1.	Метилсалицилат	16,11	1,15
1.	Салициловый спирт	0,45	Н.в
1.	Изоамилсалицилат	Н.в	0,39
1.	3,4-дигидро-2Н-1-бензофуран-2-он(дигидрокумарин)	0,50	Н.в
1.	Кумаранон	0,81	Н.в

**Примечание:** Н.в.- не выявлены

Кумариновые производные— 2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-6-метил-4Н-пиран-4-он, гидрокумарин, в сумме составляли 1,32%. Вместе с тем, в корневищах обнаружен изоамилсалицилат, отсутствующий в клубеньках.

Окончательное выяснение вопроса о природе индукторов клубнеобразования у лабазника степного, требует дополнительных экспериментальных исследований — изучению воздействия этих соединений непосредственно на растение. Этому вопросу будут посвящены наши дальнейшие исследования.

## Литература

1. Приказ МЗ СССР 14. 22.06.57 г. "О внедрении в практику микстуры по прописи М. Н. Здренко"
2. Lempiäinen T. The effect of cultivation and fertilizers on *Filipendula vulgaris* Moench, especially on its tuberous roots// Acta Bot. Fenn. 1978., 107, p. 1-22.
3. Гудкова Н. Ю. О перспективах интродукции представителей рода лабазник (*Filipendula* Mill.) в качестве источников лекарственного сырья // С.-х. биология, 2012, № 2.-С.73-79
4. Bączek K.et al. Seasonal variation of phenolics content in above- and underground organs of dropwort (*Filipendula vulgaris* Moench)// Herba Polonica 2012. 58 (3) p.34-32
5. Stallknecht G.F., Farnsworth S. General characteristics of coumarin - induced tuberization of axillary shoots of *Solanum tuberosum* L. cultured in vitro // Amer. Potato J., 1982. Vol. 59. P. 17-32.
6. Nistor A., Chiru N., Cioloca M., Popa M. Researches Concerning Improving Methods of in Vitro Microtubers Production//Bulletin UASVM Agriculture, 2014, Vol.71. №1. P. 118-124
7. Facchini P.J., Hagel J., Zulak K.G. Hydroxycinnamic acid amide metabolism: physiology and biochemistry //Canadian J. of Botany, 2002, Vol. 80, No. 6 : pp. 577-589

## **БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОКСОМЕТАЛЛАТОВ НА ПРИМЕРЕ СЕРЕБРЯНОЙ СОЛИ ГЕРМАНОМОЛИБДАТА**

Баянов В.А., Шевченко Д.С., Романов Р.В., Рахимова О.В.

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет  
"ЛЭТИ" имени В.И. Ульянова (Ленина) (СПбГЭТУ) Россия, 197376,  
Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 5, Санкт-Петербургский  
Государственный Университет, биолого-почвенный факультет, кафедра  
биохимии Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9

54463f11ea998

Гетерополисоединения (ГПС) относятся к наноразмерным структурам, синтезируемым методом самосборки в растворах [1], -полиоксометаллатам (ПОМ), которые представляют собой полиядерные комплексы, основой которых являются атомы ряда переходных металлов (Mo, W, V, Nb, Ta и др.) и неметаллов (Si, As, B, P) в высшей степени окисления и атомы кислорода [2].

Одной из особенностей ГПС является их биологическая активность. В биохимии ГПС применяются как осадители протеинов, алкалоидов и пуринов [3-4] Это основано на кулоновских взаимодействиях полианионов и катионных групп в биомолекулах [5]. А так же в последнее время активно изучается возможность их применения как антивирусных, антибактериальных [6-8] и противоопухолевых [9] препаратов (например, отмечается стойкое подавление роста раковых клеток опухолей груди, кишечника, мелкоклеточного рака легких, а также клеток рака поджелудочной железы без проявления побочных эффектов вроде потери веса [10]) в нецитотоксичных дозах. Несмотря на множество исследований антивирусной активности полиоксометаллатов, о механизме их взаимодействия с вирусами или клетками известно мало [11-13].

**Целью** настоящей работы являлось исследование однозамещенной соли серебра германо-молибденовой ГПК на биологическую активность в отношении грамм(+) и грамм(-) бактерий и низших грибов.

На стадии предварительных экспериментов был проведен ее синтез по методике, изложенной в [14], и исследована её структура методами рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии. В результате проведенных структурных исследований нами было установлено, что синтезированное соединение относится к насыщенным

ГПС (Ge:Mo=1:12) с гексагональной сингонией (рис. 1) и соответствует молекулярной формуле  $AgH_3[GeMo_{12}O_{40}]$  (рис 2).

Порошковая рентгенограмма получена на ДРОН-3 с Co-излучением. Методом рентгено-флуоресцентного анализа установлено соответствие химической формулы образца  $AgH_3[GeMo_{12}O_{40}] \cdot x H_2O$  с мольным соотношением Ag:Ge:Mo=1:1:12

Таблица 1. Значения характеристических углов рентгенограммы  $AgH_3[GeMo_{12}O_{40}] \cdot x H_2O$  на Co-излучении.

<b>2θ</b>	<b>d</b>	<b>I, %</b>
17.776	5.7894	8
25.173	4.1048	17
27.969	3.7014	18
30.162	3.4379	13
30.931	3.3544	100
35.837	2.9074	31
38.095	2.7409	15
42.260	2.4814	29
46.105	2.2843	10
51.501	2.0589	13
59.643	1.7987	9
65.700	1.6490	15
74.301	1.4811	13

Исследование однозамещенной соли серебра германо-молибденовой ГПК на биологическую активность в отношении грамм(+) и грамм(-) бактерий и низших грибов дало следующие результаты:

Таблица 2.

<b>Количество колоний, выросших после инкубации с <math>AgH_3[GeMo_{12}O_{40}]</math>, в процентах от контроля</b>				
	<b>Концентрация действующего вещества</b>			
	$10^{-4}$ М	$10^{-5}$ М	$10^{-6}$ М	$10^{-7}$ М
<b>E. coli</b>	0	0	0	0
<b>L. monocytogenes</b>	0	0	0	96
<b>C. albicans</b>	0	0	0	93

В дальнейшем нами предполагается исследовать антивирусные свойства полученного соединения.

**Публикация выполнена в рамках государственной работы «Проведение научно-исследовательских работ (фундаментальных научных исследований, прикладных научных исследований и экспериментальных разработок)» базовой части государственного задания Минобрнауки России. Код проекта: 2548.**

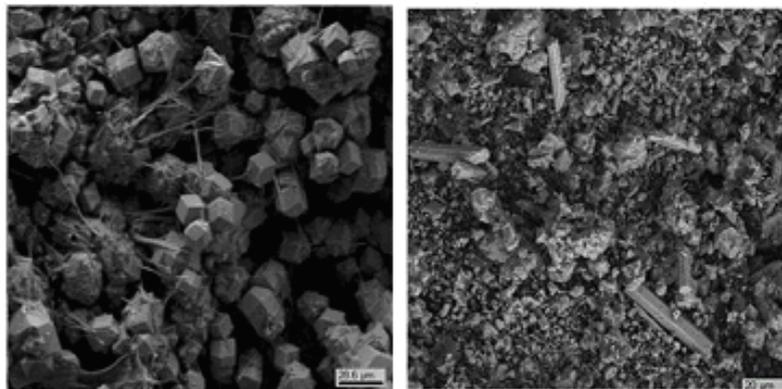


Рис 1. Микрофотографии образцов соли.

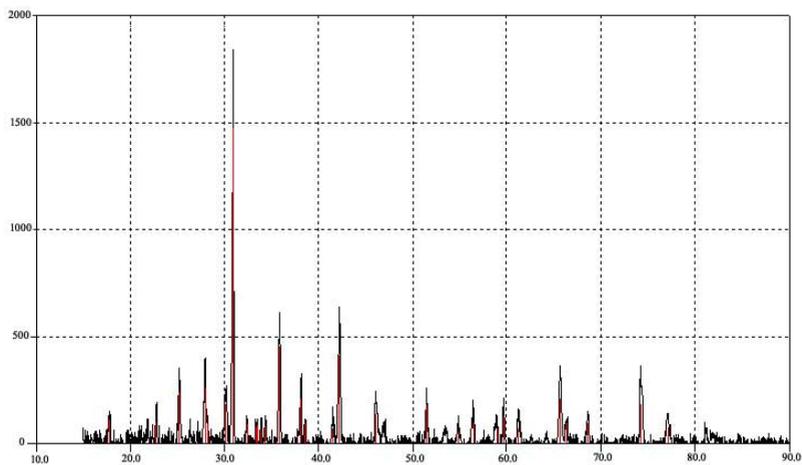


Рис. 2. Дифрактограмма образца  $\text{AgH}_3[\text{GeMo}_{12}\text{O}_{40}] \cdot x \text{H}_2\text{O}$

## Литература

1. Müller, Achim. Polyoxometalate Molecular Science. Nano Science Series II, Vol. 98 / Juan J. Borrás-Almenar, E. Coronado, Michael Pope, Achim Müller. - Springer Science & Business Media, 2003. - 475 p.
2. Поп, М.Т. Гетерополи- и изополиоксометаллаты / М.Т. Поп. - Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1990.- 223с.
3. Geisenger, K.R., Batsakis, J.G., Bauer, R.C. Serum uric acid / K.R. Geisenger, J.G. Batsakis, R.C. Bauer // Am. J. Clin. Path. - 1979. - v. 72. - p. 330-336.
4. Negrin, A. Measurement of Cholesterol in Tissues with Phospho-6-tungstic-12-molybdic Acid / A. Negrin // Clin. Chem. - 1969. - v. 15(9). - p.829-838.
5. Scott, J.E. Phosphotungstate: a "universal" (nonspecific) precipitant for polar polymers in acid solution / J.E. Scott // Journal of Histochemistry and Cytochemistry. - 1971. - v. 19(11) - p.689- 691.
6. Judd, D.A. Polyoxometalate HIV-1 protease inhibitors. A new mode of protease inhibition / D.A. Judd, J.H. Nevins, N. Nevins, J.P. Snyder, D.C. Liotta, J. Tang, J. Ermolieff, R.F. Schinazi, C.L. Hill // J. Am. Chem. Soc. - 2001. - №123. - p. 886-89
7. Flutsch, A. HIV-1 protease inhibition potential of functionalized polyoxometalates / Andreas Flutsch, Thilo Schroeder, Markus G. Grutter, Greta R. Patzke // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. - 2011. - №21. - p. 1162-1166.
8. Barnard, D.L. Anti-respiratoiy synscytial virus activity of selected polyoxometalates / D.L. Barnard, C.L. Hill, T.L. Gage, R.W. Sidwell, R.F. Schinazi // Antiviral Research. - 1995. - V. 26. № 3. - p. 43-49.
9. Prudent, R. Identification of Polyoxometalates as Nanomolar Noncompetitive Inhibitors of Protein Kinase CK2 / R. Prudent, V. Moucadel, B. Laudet, C. Barette, L. Lafanechère, B. Hasenknopf, J. Li, S. Bareyt, E. Lacôte, S. Thorimbert, M. Malacria, P. Gouzerh, C. Cochet. // Chemistry & Biology. - 2008. - Volume 15, Issue 7. p. 683-692.
10. Yanagie, H. Anticancer activity of polyoxomolybdate / H. Yanagie, A. Ogata, S. Mitsui, T. Hisa, T. Yamase, M. Eriguchi / Biomed. Pharmacother. - 2006. - vol. 60 (7). - p. 349-352.
11. Boudinot, F.D. Cellular localization of antiviral polyoxometalates in J774 macrophages / L. Ni.; P. Greenspan; R. Gutman; C. Kelloes; M.A. Farmer; F.D. Boudinot // Antiviral Res. - 1995. - 32 (3). - p. 141-148;
12. Berry, J. P.; Galle, P. Subcellular localization of HPA-23 in different rat organs: electron microprobe study / J.P. Berry, P. Galle // Exp. Mol. Pathol. - 1990. - 53 (3). - p. 255-264.

13. Sarafianos, Stefanos G. Mechanism of polyoxometalate-mediated inactivation of DNA polymerases: an analysis with HIV-1 reverse transcriptase indicates specificity for the DNA-binding cleft / Stefanos G. Sarafianos, Ulrich Kortz, Michael T. Pope, Mukund J. Modak // Biochem. J. - 1996. - vol. 319. - p. 619-626.
14. Никитина, Е.А. Гетерополисоединения / Е.А. Никитина. - М.: Госхимиздат, 1962.- 422с.

## **ADHESION OF HUMAN AND ANIMAL CELLS ON THE MODIFIED GLASS**

Белините М.А., Перес Х.Э., Фаттахова А.Н.

КФУ

542be362ad124

Development of new technological and economical substrates for the cultivation of cell cultures for the purpose of medicine and biotechnology is an integral part of the developing of biomedical science. The aim of our study is to create a 2D-matrix having certain properties and and the possibility of obtaining tissue and tissue like structures.

At the moment scientists prefer to use plastic substrates for cell culture. But we know that these substrates contain estrogen-like substances - bisphenol A, which has a negative effect on the brain and the human reproductive system.

As a result of research was determined that hepatocytes and fibroblasts adhered to the modified and control glasses. Quantity hepatocytes experienced matrices was  $2.8 \pm 0.2$  times more than on the control of smooth glass, and the number of fibroblasts in  $1.5 \pm 0.5$  times was more than on the control of smooth glass.

This study allowed us to conclude about the effectiveness of cultivation of hepatocytes and fibroblasts on glass, modified by ion-beam method.

### **Литература**

1. Baker B. M., Chen C. S. 2012. Deconstructing the third dimension — how 3D culture microenvironments alter cellular cues. *J. Cell Sci.* 125 : 3015—3024.
2. Freshney R., Freshney M. 2012. Isolation and culture of animal and human hepatocytes. In: *Culture of epithelial cells. Second Edition.* New York: Wiley-Liss Press. 1 : 365.

---

**ТЕОРЕТИЧЕСКИ РАССЧИТАННАЯ ПРОСТРАНСТВЕННАЯ  
МОДЕЛЬ МИНИ-ФЕРМЕНТА, МОДЕЛИРУЮЩЕГО  
КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР АЛЛЕНОКСИДСИНТАЗЫ LeAOS3  
(CYP74C3) ТОМАТА**

Бессолицына Е.К., Ермакова Е.А., Топоркова Я.Ю.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН

5461ec4cd88b4

Цитохромы P450 – обширная группа белков из семейства цитохромов, осуществляющих реакции окисления молекулярным кислородом органических соединений и являющихся важнейшими элементами системы детоксикации ксенобиотиков. Практически все ферменты суперсемейства P450 являются монооксигеназами, и для них характерно использование двух субстратов: непосредственно окисляемого соединения и молекулярного кислорода.

Уникальным свойством ферментов семейства CYP74 (алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ) дивинилэфирсинтазы (ДЭС), эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС)), участвующих в липоксигеназном каскаде растений, является отсутствие необходимости в молекулярном кислороде.

Относительно механизмов катализа, определяющих специфичность действия ферментов этого семейства, единого мнения у исследователей не существует. К настоящему времени методом рентгеноструктурного анализа расшифрованы третичные структуры только двух алленоксидсинтаз. Получение рентгеноструктурных моделей данных ферментов крайне затруднено, в том числе и в связи со значимыми размерами и сложностью получения кристаллических форм. Решением данной проблемы стало создание методами геной инженерии мини-фермента, моделирующего каталитический центр большого белка, с последующим анализом его структуры в комплексе с субстратом методом ЯМР высокого разрешения. Мы получили мини-фермент (25 кДа) на основе аминокислотной последовательности алленоксидсинтазы LeAOS3 (CYP74C3) томата (56 кДа). Мини-фермент сохранил способность удерживать в своем составе гем, а также катализировать превращения гидроперекисей жирных кислот – природных субстратов ферментов CYP74.

Однако механизм реакции был изменен: аналогичные продукты были

получены в реакциях, катализируемых мутантными формами ферментов СУР74. Методом докинга было показано, что субстрат может образовывать энергетически выгодные комплексы с мини-ферментом, с энергией взаимодействия от -3 до -12 ккал/моль. При этом субстрат локализуется как в области активного центра, так и вне его, а наиболее энергетически выгодные комплексы были обнаружены в активном центре фермента. Анализ различных вкладов в полную энергию взаимодействия показывает, что электростатическое взаимодействие белка с субстратом слабое, и наибольший вклад в энергию взаимодействия вносят энергия Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, водородных связей и энергия сольватации.

**Работа поддержана грантом РФФИ  
12-04-97087-р\_поволжье\_а.**

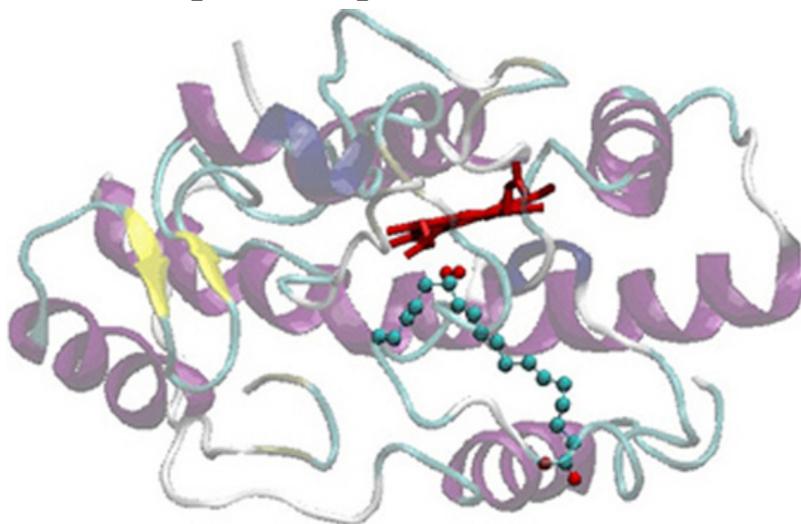


Рис. 1. Одна из структур комплекса мини-фермента с субстратом, полученная методом докинга

## **ПРИМЕНЕНИЕ АСМ В ЖИДКОСТИ ДЛЯ АНАЛИЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕМБРАНОТРОПНЫХ ПОЛИМЕРОВ С ПЛАЗМАЛЕММОЙ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Бондарь О.В., Лебедев Д.В., Шевченко В.Д., Осин Ю.Н., Штырлин Ю.Г.,  
Абдуллин Т.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

*5469f22aef0f8*

Механические свойства плазматической мембраны играют важную роль в разных процессах жизнедеятельности клетки, как в норме, так и при патологии. Особый интерес представляет изучение влияния амфифильных полимеров на свойства плазмалеммы клеток человека. Это обусловлено тем, что подобные полимеры рассматриваются в качестве носителей, улучшающих трансмембранный перенос и внутриклеточное накопление лекарственных препаратов.

Для изучения микромеханических свойств клеточных мембран мы применили атомно-силовую микроскопию (АСМ), основанную на прямом взаимодействии наноразмерного зонда (кантилевера) с поверхностью клеток. В настоящей работе был использован АСМ Demention FastScan Bio (BRUKER), все измерения проводились в жидкости. С помощью острого кантилевера марки Bruker FastScan-C (диаметр зонда порядка 10 нм) получены изображения топографии поверхности, а так же данные об упругих свойствах и адгезии первичных фибробластов кожи человека рис.1. Однако сканирование поверхности опухолевых клеток (линия PC-3) аналогичным способом затруднено в связи с тем, что адгезия PC-3 к субстрату существенно ниже, чем у фибробластов. Помимо этого, модуль упругости клеток PC-3 достаточно мал, так что даже при слабом воздействии острый зонд деформирует и повреждает клеточную мембрану. Для устранения этих недостатков нами были изготовлены и использованы специальные зонды с закрепленной кварцевой микросферой на вершине кантилевера. Благодаря использованию зондов с заданной геометрией вершины мы смогли применить теоретическую модель Герца для получения более точных количественных данных. Методика изготовления таких зондов подробно описана в [1]. Анализ изменения механических свойств клеток при их взаимодействии с амфифильными полимерами осуществлялся методом атомно-силовой спектроскопии (АСС), т.е. производилась регистрация силовых кривых

в ходе эксперимента по продавливанию клеток зондом. В итоге мы получали значения модуля Юнга (простого и комплексного), вязкости и времени релаксации плазмалеммы.

С помощью предложенного подхода мы проанализировали изменения вязкоупругих свойств плазмалеммы опухолевых клеток линии РС-3 при взаимодействии с линейным блоксополимером этиленоксида (ЭО) и пропиленоксида (ПО) L61, композиция которого с противоопухолевым препаратом в настоящее время проходит клинические испытания, а также с новым трехфункциональным блоксополимером ЭО и ПО марки Лапрол. Показано, что исследуемые полимеры уменьшают модуль Юнга и вязкость плазмалеммы, что может способствовать внутриклеточной доставке лекарственных средств.

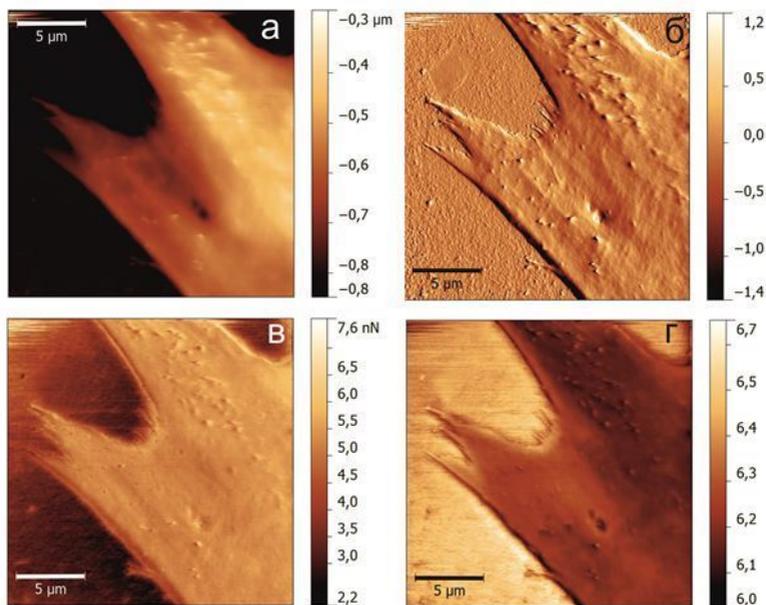


Рис. 1. АСМ изображение поверхности фибробластов кожи человека. а, б - топография поверхности и соответствующая ей фаза; в - адгезия поверхности; г - log модуля упругости поверхности. Масштабный отрезок равен 5 мкм

## **Литература**

1. Измерение модуля Юнга биологических объектов в жидкой среде с помощью специального зонда атомно-силового микроскопа/ Д.В. Лебедев, А.П. Чукланов, А.А. Бухараев, О.С. Дружинина // ПЖТФ. - 2009. - Т. 35, Вып. 8. С. 54-61.

---

## **ОЦЕНКА ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СБОРА**

Бурнашева Е.В., Ламажапова Г.П., Жамсаранова С.Д., Сынгеева Э.В.

ФГБОУ ВПО ВСГУТУ

5465d25db014e

Многочисленные исследования характера питания населения нашей страны выявили ряд нарушений, связанный с избыточным поступлением в организм жиров и углеводов. Это является одной из причин нарушения липидного обмена. Эти нарушения приводят к патологическим изменениям кровеносных сосудов и в дальнейшем повышается риск возникновения различных сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и атеросклероза.

В связи с этим, актуальным остается вопрос поиска и внедрения в практику профилактических средств, которые имели бы такие качества как хорошая переносимость, отсутствие побочных эффектов и способствовали повышению качества жизни населения.

Одним из путей реализации данного аспекта является использование растительных средств, которые содержат широкий спектр метаболически близких организму человека биологически активных веществ (БАВ). Одним из таких растительных средств является лекарственный сбор, разработанный Институтом общей и экспериментальной биологии СО РАН на основе рецептов тибетских прописей [1].

В состав данного растительного сбора входят следующие растения: корневище айра болотного, листья черного бадана толстолистного, плоды боярышника кроваво-красного, корни одуванчика лекарственного, соцветия ромашки аптечной, трава горца птичьего, плоды шиповника.

В работах Николаева С.М. и др. [1] экспериментально установлено гипохлипидемическое действие комплексного растительного средства. Так, авторами было исследовано влияние исследуемого сбора на липидный обмен, который оценивали на различных моделях экспериментальных гиперлипидемий. Согласно данным исследованиям, в частности, в условиях тритоновой гиперлипидемии уровни ОХС, ТГ и атерогенных липопротеидов в сыворотке крови снизились на 29,9, 40,2 и 19,9% относительно контрольной группы, а уровень ЛПВП повысился

на 3,9%.

Одним из путей увеличения эффективности растительных средств является инкапсулирование, использование наноразмерных коллоидных носителей лекарственных средств. Использование коллоидных систем доставки способствует повышению эффективности действия таких средств за счет оптимизации биораспределения и токсикодинамики лекарственных веществ.

Наиболее широко применяемыми в настоящее время наноносителями биологически активных веществ являются липосомы. Липосомы представляют собой жидкокристаллические, смектические мезофазы, в которых чередующиеся бимолекулярные липидные ламеллы, напоминающие природные мембраны, разделены водными пространствами. Липосомы обычно получают из фосфолипидов, являющихся, как известно, основными структурными компонентами мембран [2]. Следует подчеркнуть, что липосомы не только обладают способностью транспортировать лекарственные средства к пораженным тканям, но и сами обладают выраженной биологической активностью. На сегодняшний день установлены иммуностимулирующие, радиопротекторные, противовоспалительные, антигипоксические, антиоксидантные свойства липосом [3,4,5].

Включение лекарственного вещества в липосомы может значительно повысить их терапевтическую эффективность, поскольку, с одной стороны, препарат, находящийся в липосоме, защищен ее мембраной от действия неблагоприятных факторов, а с другой – та же мембрана не позволяет токсичному препарату превысить допустимую концентрацию в биологических жидкостях организма. Липосомы в данном случае выполняют роль хранилища, из которого препарат высвобождается постепенно, в нужных дозах и в течение требуемого промежутка времени [6].

**Целью настоящего исследования** является оценка гипотезы гипотетического эффекта липосомальной формы растительного экстракта в условиях экспериментальной гиперлипидемии.

#### **Материалы и методы**

Эксперименты выполнены на 40 крысах-самцах линии Вистар с исходной массой 120-150 г. Животные были получены из питомника НИИ Биофизики Ангарской государственной технической академии.

Все экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария в полном соответствии с санитарными правилами по устройству и содержанию животных. Эксперименты выполнены с соблюдением всех правил и рекомендаций Европейской конвенции по

защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах (Страсбург, 1986).

Нами был использован сухой экстракт растительного сбора, обладающий гиполипидемическим действием [1]. Также в работе были использованы липосомы, которые получали из фосфолипидов печени байкальской нерпы, с добавлением жира нерпы [3], витамина Е и растительного сбора, который был предоставлен Институтом общей экспериментальной и биологии СО РАН, в дозе 500 мг/кг массы животного (в пересчете на сухой остаток отвара 1:10).

Экспериментальную гиперлипидемию у крыс вызывали согласно МУК 2.3.2.721-98.2.3.2, разработанным Институтом питания РАМН.

Экспериментальные животные были разделены на 3 опытные группы:

1 группа - интактные, животные, которые на протяжении всего эксперимента получали стандартный корм и воду (n=10);

2 группа - контроль. Крысы находились на атерогенной диете, содержащей 3-5% холестерина, 0,3% тиоурацила, 1% холевой кислоты в течение 21 дня (n=10);

3 группа - животные, которые получали одновременно с атерогенной диетой липосомальную суспензию с растительным экстрактом в течение 21 дня (n=10).

Степень выраженности дислипидемического состояния у животных оценивали по уровню содержания в сыворотке крови общего холестерина (ОХС), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), триглицеридов (ТГ) и индекса атерогенности (ИА).

Все биохимические анализы были проведены стандартными реактивами фирм «Абрис+» и «Диас» на биохимическом анализаторе BS-400 (КНР).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы STATISTICA 6.0.

### **Результаты исследования**

Результаты гиполипидемического эффекта липосомальной формы растительного экстракта представлены на рисунках 1,2.

Как видно из рисунка 1, при введении атерогенной диеты уровень общего холестерина у контрольной группы повысился на 62,3% относительно интактной группы. Было отмечено, что уровень триглицеридов в сыворотке крови животных у контрольной группы увеличился на 40%, относительно у интактной группы. Также повысились такие показатели как ЛПНП и ЛПОНП в группе "контроль" в 1,4 и 2,1 раз, соответственно, по сравнению с группой «интакт».

Повышение показателей ОХС, ЛПНП и ЛПОНП приводило к понижению уровня ЛПВП в контрольной группе животных на 45,7%. Этот факт также обуславливает повышение индекса атерогенности в контрольной группе животных в 7,3 раза по отношению к «интакту».

На рисунке 2 показано изменение липидного профиля при введении липосомальной суспензии с растительным экстрактом.

При использовании липосом с растительным сбором значительно снизились такие показатели, как ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПОНП на 41,3%, 36%, 22,6%, 35,1%, соответственно, по отношению к показателям в контрольной группе животных. Снижение данных показателей и обуславливает повышение уровня ЛПВП на 54%. Это свидетельствует о выраженном гиполипидемическом эффекте разработанной липосомальной формы растительного сбора.

### **Заключение**

В результате настоящего исследования было установлено, что пероральное введение липосомальной формы растительного сбора способствовало значительному снижению ОХС, ТГ, ЛПНП и ЛПОНП в сыворотке крови животных и повышению ЛПВП.

Комплексный растительный сбор в экспериментальных исследованиях, проведенных Николаевым и др. [1], оказывал гиполипидемическое действие в экспериментальных моделях гиперлипидемии. В частности, в условиях тритоновой гиперлипидемии при введении комплексного растительного сбора индекс атерогенности снижался в 2 раза. Разработка липосомальной формы растительного экстракта усиливало гиполипидемический эффект, индекс атерогенности в нашем эксперименте снижался в 5 раз.

Это, по-видимому, обусловлено тем, что липосомальная форма растительного сбора содержит определенное количество полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Как известно, ПНЖК обладают способностью повышать выведение холестерина из организма, переводя его в легкорастворимые соединения [7]. По полученным ранее данным, липосомы, разработанные на основе ПНЖК, проявляли гиполипидемическое действие [8].

Таким образом, проведенные исследования обосновывают целесообразность использования липосомальной формы растительного сбора для усиления гиполипидемического эффекта.

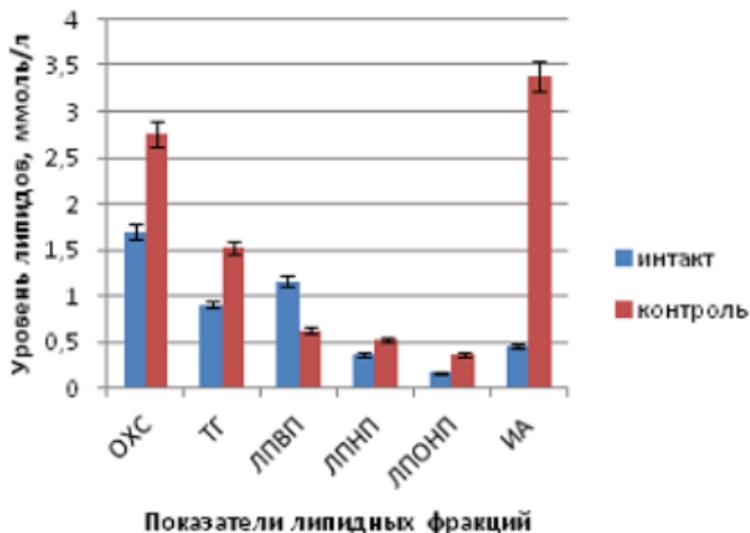


Рис. 1. Показатели уровня липидных фракций и индекса атерогенности в сыворотке крови интактных и контрольных групп.

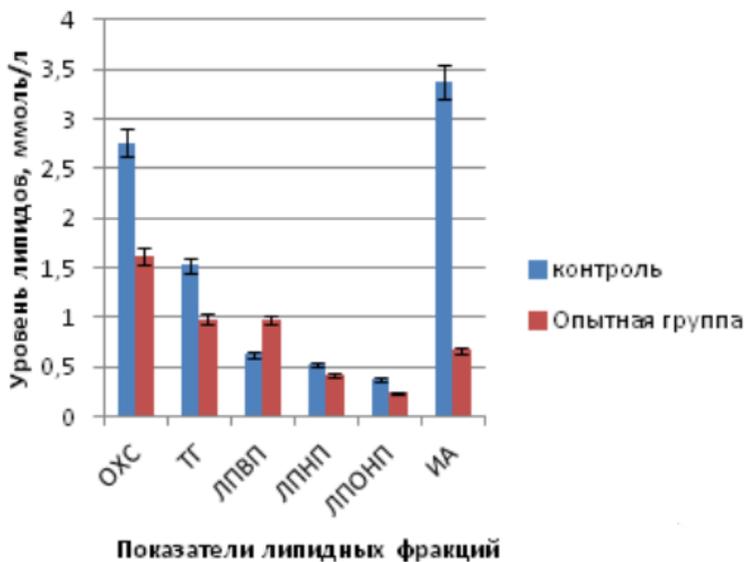


Рис. 2. Показатели уровня липидных фракций и индекса атерогенности в сыворотке крови контрольной и опытной групп.

## Литература

1. Николаев С.М. Оценка фармакотерапевтического действия гиполипидемического сбора / С.М. Николаев, Г.Т. Намсараева, Э.Г. Найданова // Сибирский медицинский журнал. 2003. Т.37. №2. С.54-57.
2. Швец В.И. Липосомы и их взаимодействие с клетками и тканями / В.И. Швец. М.: Наука, 1981. С.44-51
3. Патент РФ на изобретение №2153328. Способ получения липосом / Н.А. Тыхеева, Г.П. Ламажапова, С.Д. Жамсаранова. // Бюл.30. 2007.
4. Патент РФ на изобретение № 2308940. Способ получения липосом, обладающих иммунокорригирующим и гепатопротекторным действием / Ламажапова Г.П., Жамсаранова С.Д., Цыренжапов А.В., Николаев С.М. Оpubл. 16.05. 2006 г.
5. Бушмакина И.М. Получение липосомальной формы бутаминофена методом механического диспергирования / И.М. Бушмакина, Н.И. Дроздова, Н.С. Голенко, М.А. Мартынова // Химико-фармацевтический журнал. 2009. Том 43. №4. С.41-43.
6. Краснопольский Ю.М. Некоторые аспекты технологии получения липосомальных форм лекарственных препаратов / Ю.М. Краснопольский, А.Е. Степанов, В.И. Швец // Химико-фармацевтический журнал. 1999. № 10. С.20-23.
7. Титов В.Н. Жирные кислоты, холестерин и атеросклероз // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. 2005. №2. С.36-38.
8. Burnasheva E.V. Influence of Liposomal Form of Polyunsaturated Fatty Acids on the Lipid Profile of Blood Serum in Animals with Experimental Hiperlipidemia / Elena Valeryevna Burnasheva, Galina Petrovna Lamazhapova, Sesegma Dashieva Zhamsaranova // Advances in Environmental Biology, 8(10) June 2014, Pages: 247-251.

## **РЕГУЛЯЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Th2-ЛИМФОЦИТОВ ГАЛЕКТИНАМИ 1-ГО И 3-ГО ТИПОВ IN VITRO**

Васильева О.А., Васильев А.С., Якушина В.Д.

ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет  
Министерства Здравоохранения Российской Федерации,  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии и  
регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга»

546322ed8f72d

Иммунная система располагает разнообразными возможностями саморегуляции, к которым относятся механизмы иммуносупрессии, иммуностимуляции и переключения форм иммунного ответа. В настоящее время ключевые клетки-участники реализации адаптивного иммунного ответа - Т-хелперы - подразделяют на следующие подтипы: Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh (follicular) и Treg (regulatory cells) [1, 2]. Перспективным направлением исследований является поиск новых эндогенных регуляторов иммунологического баланса. В качестве регуляторов Т-клеточного гомеостаза нами рассматриваются эндогенные гликансвязывающие низкомолекулярные белки семейства лектинов – галектины (1-го и 3-го типов), способные влиять на процессы трансдукции сигналов, межклеточную кооперацию и реализацию запрограммированной гибели [3, 4].

Галектины-1 и -3 секретируются клетками лимфоузлов, тимуса, селезенки, макрофагами, дендритными, эпителиальными и опухолевыми клетками. Галектины функционируют как экстрацеллюлярные молекулы и принимают участие в активации различных типов клеток, таких как моноциты, макрофаги, тучные клетки, нейтрофилы и лимфоциты [3]. В данном исследовании *in vitro* исследуется способность галектинов 1-го и 3-го типов влиять на дифференцировку Th2-лимфоцитов. Th2-лимфоциты играют важную роль в гуморальном иммунном ответе и защищают организм от внеклеточных патогенов, в том числе паразитов, гельминтов, бактерий.

Ключевым транскрипционным фактором дифференцировки Th2-клеток у человека служит GATA-3. Основным источником стимулов к экспрессии GATA-3 при активации CD4<sup>+</sup> Т-клеток служат сигналы, генерируемые при действии на клетку антигена и IL-4. Основными мишенями действия GATA-3 являются гены Th2-цитокинов. Наиболее

отчетливо проявляется действие GATA-3 на гены IL-5 и IL-13, экспрессия которых усиливается в результате прямого связывания димеров GATA-3 с промоторами названных генов [1]. Индукция выработки Th2-цитокинов и стабилизация активированного состояния могут рассматриваться как основа дифференцировки Th2 клеток.

**Цель работы** - оценить влияние рекомбинантных галектинов-1 и -3 на уровень экспрессии мРНК транскрипционного фактора GATA-3 и продукцию IL-13 лимфоцитами периферической крови.

**Материалы и методы.** Исследование проведено с использованием мононуклеарной фракции лейкоцитов, выделенной из крови практически здоровых доноров (n=15) методом градиентного центрифугирования. Количество выделенных клеток стандартизировали до  $2.0 \times 10^6$ /мл, разбавляя полной питательной средой, состоящей из 90% RPMI-1640 (ЗАО «Вектор», Россия), 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (ООО «Биолот», Россия), 0.3 мг/мл L-глутамина, 50 мкг/мл гентамицина. Лимфоциты культивировали с рекомбинантными галектинами-1 и -3 («RnDSystems», США) вместе с активирующими антителами: анти-CD3 и анти-CD28 («BD Pharmingen™», США) в 48-луночных стерильных планшетах («BD Falcon™», США) в течение 72 ч в CO<sub>2</sub>-инкубаторе.

Влияние рекомбинантных галектинов тестировали в двух дозах, подобранных в ходе предварительных экспериментов, а именно, для галектина-1 рабочие концентрации составили: 1.0 и 2.0 мкг/мл, а для галектина-3 - 0.5 и 1.0 мкг/мл. За 4 ч до окончания инкубации в культуры клеток добавляли стимуляторы синтеза цитокинов: форболмиристилацетат (50 нг/мл, Tocris Bioscience, США) и иономицин кальция (1 мкг/мл, Tocris Bioscience, США), после чего среду с клетками переносили в пробирки, центрифугировали 10 мин при 1500 об./мин. Образовавшийся осадок клеток использовали для выделения РНК и последующей оценки уровня экспрессии мРНК транскрипционного фактора дифференцировки Th2-лимфоцитов, а супернатант - для детекции количества IL-13. В качестве контроля использовали мононуклеарные лейкоциты, которые культивировали в аналогичных условиях, но без добавления галектинов в питательную среду.

Выделение РНК из мононуклеарных лейкоцитов осуществляли сорбентно-колоночным методом (RNeasy Plus Mini Kit, QIAGEN, Германия). Следующим шагом синтезировали ДНК на матрице мРНК при участии обратной транскриптазы. Полученный фрагмент ДНК амплифицировали методом ПЦР в режиме реального времени с использованием SYBR Green I («Molecular Probe», США) на

амплификаторе Mini Opticon («Bio-Rad», США). Для определения относительного количества кДНК в образце использовали метод  $\Delta\Delta Ct$ . Результаты выражали в относительных единицах: отношение величины порогового цикла амплификации исследуемого гена к пороговому циклу амплификации гена “домашнего хозяйства” –  $\beta$ -актина. Определение уровня продукции интерлейкина 13 в культуральных супернатантах осуществляли методом твердофазного иммуоферментного анализа типа «сэндвич» согласно протоколам фирмы-производителя («RnDSystems», США). Достоверность различий ( $P < 0.05$ ) оценивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона для зависимых выборок. Данные представлены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей ( $Q_{25}$ - $Q_{75}$ ).

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенного исследования показано, что уровень экспрессии мРНК транскрипционного фактора GATA-3, ответственного за дифференцировку Th2-лимфоцитов, в контрольной группе составил 1.61 (0.29-10.06) отн. ед. При добавлении галектина-1 в дозе 1,0 мкг/мл экспрессия мРНК GATA-3 статистически значимо ( $p < 0,05$ ) повышалась. Экспрессия мРНК GATA-3 в данной группе составила 16.18(15.06-18.40) отн.ед., превысив значения аналогичного показателя в контрольной группе в 12 раз. При увеличении концентрации галектина-1 до 2,0 мкг/мл содержание мРНК GATA-3 значимо уменьшалось ( $p < 0.05$ ), по сравнению с данным показателем при действии галектина-1 в дозе 1.0 мкг/мл, но оставалось статистически значимо выше ( $p < 0.05$ ) по сравнению с контрольной группой, составив 5.46(2.95-6.17) отн.ед. Добавление галектина-3 в концентрации 0.5 мкг/мл в культуральную среду приводило к 2.5-кратному увеличению ( $p < 0.05$ ) уровня экспрессии мРНК транскрипционного фактора GATA-3 в лимфоцитах относительно группы контроля. При увеличении концентрации галектина-3 до 1.0 мкг/мл стимулирующее действие ослабевало, и уровень экспрессии мРНК значимо не отличался от контрольного уровня. Концентрация интерлейкина-13 - профильного цитокина Th2-лимфоцитов - при действии галектинов 1-го и 3-го типов изменялась однонаправлено с изменением уровня экспрессии мРНК транскрипционного фактора GATA-3. При добавлении галектина-1 в дозах 1.0 и 2.0 мкг/мл количество IL-13 в надосадочных фракциях клеток составило 1049.00(952.75-1241.37) и 543.00(379.12-799.50) пг/мл, что оказалось статистически значимо выше ( $p < 0.05$ ) значений аналогичного показателя в контрольной группе (246.9 (130.8-323.6) пг/мл). При этом в пробе с добавлением галектина-1 в дозе 2.0 мкг/мл содержание IL-13 было значимо ниже ( $p <$

0.05), по сравнению с данным показателем при действии галектина-1 в концентрации 1.0 мкг/мл. Результаты экспериментов показали, что галектин-3, также как и галектин-1, оказывает дозозависимое стимулирующее действие на продукцию IL-13. Так при добавлении в культуру мононуклеарных лейкоцитов галектина-3 в дозе 0.5 мкг/мл концентрация IL-13 составила (919.5 (564.9-1200.5) пг/мл), что 3,5 раза выше соответствующих значений в группе контроля. При увеличении дозы до 1 мкг/мл – уровень IL-13 снизился в 2.4 раза по сравнению с таковым при действии галектина-3 в дозе 0.5 мкг/мл (374.2 (230.1-460.3) пг/мл), но при этом остался в 1,5 раза выше контрольных значений (246.9 (130.8-323.6) пг/мл). Полученные данные свидетельствуют о том, что оба исследуемых галектина оказывают стимулирующее влияние на дифференцировку Th2-лимфоцитов, действуя в минимальной эффективной дозе. С увеличением концентрации галектинов-1 и -3 стимулирующий эффект ослабевал, что, вероятнее всего, связано с индукцией апоптоза лимфоцитов [6]. Механизм стимулирующего влияния галектинов-1 и -3 на уровень экспрессии мРНК транскрипционного фактора GATA-3, возможно, обусловлен модуляцией путей трансдукции сигналов через киназные каскады, запускаемые в лимфоцитах активирующими лигандами. А увеличение продукции IL-13 является следствием активации контролирующего его продукцию гена (IL-13) под влиянием транскрипционного фактора дифференцировки GATA-3.

**Заключение.** Галектины 1-го и 3-го типов оказывают дозозависимое стимулирующее влияние на дифференцировку Th2-лимфоцитов *in vitro*, усиливая экспрессию мРНК транскрипционного фактора GATA-3 и продукцию интерлейкина 13.

**Благодарности:** *Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (договор №14.120.14.4184-НШ, проект № СП-208.2012.4 ).*

## **Литература**

1. Ярилин А.А. Транскрипционные регуляторы дифференцировки Т-хелперов // Иммунология. - 2010. - № 3. - С. 153-168.
2. Jäger, A. Effector and regulatory T-cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation. A. Jäger, V.K. Kuchroo // Scand J Immunol. - 2010. - Vol. 72, №3. - P. 173-184.
3. Рапопорт Е.М., Курмышкина О.В., Бовин Н.В. Галектины млекопитающих:

- структура, углеводная специфичность и функции // Биохимия. - 2008. - Т. 73, № 4. - С. 483-497.
4. Кооук, Y., Rabinovich, G.A. Protein-glycan interaction in the control of innate and adaptive immune responses // Nature Immunology. - 2008. - Vol. 9. - P. 593-601.
  5. Васильева О.А., Якушина В.Д., Зима А.П. и др. Апоптозиндуцирующее действие галектинов 1-го и 3-го типов на CD4<sup>+</sup>- лимфоциты *in vitro* // Российский иммунологический журнал, 2013. - Т.7 (16), № 2-3. - С. 138-139.

## **ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА КАК МЕМБРАННОЙ ПАТОЛОГИИ**

Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Голощапов А.Н., Каспаров В.В.,  
Коварский А.Л., Бурлакова Е.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт  
биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской академии наук

5462b163115f6

В регуляции многих клеточных систем участвуют мембраны. Функционирование мембран и воздействие на них внешних факторов, таких как патология или биологически активные вещества, приводит к генерализованным структурным переходам, затрагивающим как липидную, так и белковую фазы. Предпосылкой таких переходов является изменение текучести мембран. В результате происходит изменение липид-белковых взаимодействий, и активности, специфичности, чувствительности мембранных белков к регуляторным факторам. Таким образом, структура липидного бислоя играет важную роль в метаболизме клетки. Поэтому целью нашего исследования было изучение изменений структурных характеристик биологических мембран в норме, при патологии и при воздействии биологически активных веществ. В качестве показателей структурного состояния мембран изучались вязкостные свойства.

На первом этапе исследовались изменения текучести мембран, выделенных из мозга, а также мембран эритроцитов мышей с патологией, моделирующей болезнь Альцгеймера (БА), основанной на удалении обонятельных луковиц. В ходе исследований были выявлены стадийные изменения текучести мембран, выделенных из переднего мозга. На пятый месяц после бульбэктомии наступает период компенсации. Полученные результаты коррелируют с данными других лабораторий об изменениях когнитивных функций, содержания  $\beta$ -амилоида, активности ацетилхолинэстеразы и т.д. Подобные стадийные изменения наблюдались и в структуре мембран эритроцитов. Структурное состояние мембран эритроцитов хорошо соотносится со структурой мембран, выделенных из мозга. Следовательно, состояние мембран эритроцитов отражает общее состояние организма. По данным, полученным в экспериментах с моделью БА, сделано предположение,

что подобные изменения структуры мембран могут происходить и при развитии БА у человека. В связи с этим нами изучено структурное состояние мембран эритроцитов 10 пациентов разного пола и возраста с различной степенью тяжести БА. Установлено, что у всех пациентов с БА повышена текучесть обеих областей мембран эритроцитов, т.е. нарушены связи в системе регуляции ПОЛ клеточных мембран.

В настоящее время терапия БА сводится лишь к симптоматическому лечению. Как показано выше, структура мембран играет важную роль при развитии БА, поэтому актуальной является задача выявления вклада модификации мембран при воздействии применяемых для терапии БА средств. Поэтому в работе изучено действие перспективных нейропротекторов димебона и NT-1505, предлагаемых для лечения БА, на микровязкость мембран, выделенных из мозга мышей. Нами было выявлено, что при хроническом введении нейропротекторы димебон и NT-1505 изменяют структуру мембран таким образом, что текучесть липидного бислоя со временем возвращается в норму. Следовательно, микровязкость мембран играет важную роль в метаболизме клетки и является важной структурной характеристикой.

По результатам нашей работы сделан вывод о том, что нарушения в структуре мембран играют важную роль при развитии патологий. Учитывая эти изменения можно глубже понять, как протекает процесс развития патологии на клеточном уровне, оценить состояние здоровья пациентов, а также повысить эффективность терапии.

## МЕТОД ГЛОБАЛЬНОЙ МИНИМИЗАЦИИ СУММЫ ПАРНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ОДНОТИПНЫХ АТОМОВ

Деянов Р.З., Щедрин Б.М.

МГУ имени М.В.Ломоносова, факультет ВМК, г. Москва

543d19a64ff87

### **Аннотация.**

*Для поиска глобального минимума функции многих переменных разработан алгоритм последовательного спуска по системе локальных минимумов. В случае конечного числа точек локального минимума и знания оценки глобального минимума алгоритм за конечное число шагов находит точку глобального минимума. Метод применен к поиску глобального минимума потенциала атомного кластера; полученные результаты совпадают со значениями Кембриджской базой данных, также получена оптимальная конфигурация кластера для 148 атомов. Используемая программа может применяться для широкого круга задач минимизации при обработке экспериментальных данных.*

**Ключевые слова:** *глобальный минимум, многоэкстремальная оптимизация, метод наименьших квадратов, парные потенциалы, кластеры, Леннард-Джонс, Морсе, Сазерленд, Букингем.*

### **Summary.**

*For the search of a global minimum of function of many variables set on one-coherent compact domain the algorithm of consecutive descent on system of local minima is developed. In case of final number of points of a local minimum and knowledge of an estimation of a global minimum the algorithm for final number of steps finds a point of a global minimum. The method is applied to search a global minimum of potential atom cluster. The received results coincide with values of the Cambridge database. The optimum configuration of the cluster for 148 atoms also is received. The program can be applied for a wide range of minimization problems at processing of experimental data.*

**Key words:** *global minimum, multiextreme optimization, least squares method, clusters, pair potentials, Lennard-Jones, Morse, Sutherland, Buckingham.*

Многие задачи обработки данных эксперимента требуют применения методов минимизации. При этом, как правило, достижение глобального минимума является принципиальным, т.к. наименьшее значение целевой

функции обеспечивает наилучшее значение параметров математической модели. Для этих целей разработан и апробирован алгоритм поиска глобального минимума функции многих переменных, когда число локальных минимумов конечно [1-3]. Алгоритм сводится к стратегии выхода из точки локального минимума (куда попадаем посредством стандартной программы) в область притяжения другой точки локального минимума со значением функции меньшим, чем в предыдущей.

Эффективность алгоритма покажем на задаче определения оптимальной конфигурации кластера атомов состоящих из однотипных атомов. Под кластером будем понимать "группы близко расположенных, тесно связанных друг с другом атомов, молекул, ионов, иногда ультрадисперсных частиц" [4], для которых будем считать допустимым учитывать только парное взаимодействие. Таким образом, энергию взаимодействия в таком кластере из  $n$  атомов будем рассматривать как сумму парных потенциалов  $v_{ij}$ :

$$E = \sum_{i < j}^n v(r_{ij})$$

где  $r_{ij}$  расстояние от  $i$ -го атома(или частицы) до  $j$ -го. Для парных взаимодействий общепринято рассматривать потенциалы: Леннард-Джонса, Дзугутова, Морса, Сазерленда, Букингема в зависимости от состояния вещества - газ/жидкость/кристалл [6-8]. В нашей работе мы будем рассматривать потенциал Морсе [5], который выбором параметра  $\rho$  (от 3.0 до 14.0) позволяет моделировать вещества в различных состояниях:

$$V_M = \epsilon \sum_{i < j}^n e^{\rho(1-r_{ij}/r_0)} (e^{\rho(1-r_{ij}/r_0)} - 2)$$

Следуя работе [6], будем рассматривать безразмерные расстояния  $r_{ij} = ||x_i - x_j||$  (принимается  $r_0=1$ ) и  $V_M$  в единицах  $\epsilon$ . Это даст нам возможность сравнить полученные результаты с [6-8]. Отсюда получаем

$$f(x_1, x_2, \dots, x_n; \rho) = \sum_{i < j}^n e^{\rho(1-r_{ij})} (e^{\rho(1-r_{ij})} - 2)$$

Задача состоит в определении декартовых координат  $n$  атомов -  $x_k \in \mathbb{R}^3$  (всего  $3n$  параметров) посредством глобальной минимизации. Данная функция имеет особенность - ее значения не изменяются при вращении и перемещении кластера как целого, т.к. межатомные расстояния не изменяются. Помимо этой особенности, главная трудность минимизации этой функции заключается в ее многоэкстремальности, т.е. в наличии совокупности устойчивых конфигураций. Подход к решению данной проблемы у большинства авторов, и в частности у [6-7], состоит в

использовании метода проб(случайным выбором) начальных точек старта и использовании стандартных методов второго порядка поиска локального минимума. В лучшем случае использовалось распараллеливание алгоритма. В нашем подходе мы принципиально не используем случайный поиск, а целенаправленно переходим от текущей найденной точки локального минимума к следующей, имеющей меньшее значение функции.

Суть метода заключается в следующем. После генерации точки начального поиска, посредством стандартного алгоритма находится точка локального минимума(с проверкой необходимых и достаточных условий - по градиенту и собственным значениям гессиана) - т.л.м.  $x_0$ . Далее для найденной точки  $x_0$  строится функция:

$$R(x, a; x_0) = f(x_0) - (||x-x_0||/d)^{2a}$$

и ищется хотя бы одно решение нелинейного уравнения  $f(x) \leq R(x, a; x_0)$ (исключая текущую точку локального минимума). Найденное решение этого неравенства даст нам следующую стартовую точку для итерации, которая приведет к более глубокому минимуму (см. рис.). Эти шаги повторяются до условия отсутствия решения неравенства или выполнения условия останова по функции (например, достижения приемлемого уровня R-фактора). Выбор параметров  $a, d$  описан в [1-3].

Тестовые результаты счета совпали с данными Cambridge Cluster Database (CCD) [7] и работы [8], где применяется метод глобальной минимизации использующий оценку константы Липшица и распараллеливание алгоритма; см. табл.1. В дополнение данным CCD, которые заканчиваются при  $n=147$ , мы нашли оптимальную конфигурацию кластера для 148 атомов. Координаты найденных атомов см. на <http://math-lab.ru/>.

Таблица 1.

Число атомов	Cambridge Cluster Database	[8] (Ю.Г.Евтушенко и др., 2007)		Наша работа	
		потенциал	ресурсы	потенциал	ресурсы
80 $\rho=3$	-690.57 7890	-690.578	суперкомпьютер MVS6000, распараллеливание 5час20мин.	-690.588928	ПК, 2.94GHz, 39 sec.
148 $\rho=3$				-1544.389404	ПК, 2.94GHz, 4 min. 9 sec.

**Заклучение.** Опыт использования данного алгоритма и соответствующих программных реализаций показал его эффективность при решении задач глобальной минимизаций с большим количеством переменных при малых ресурсных(по времени) затратах.

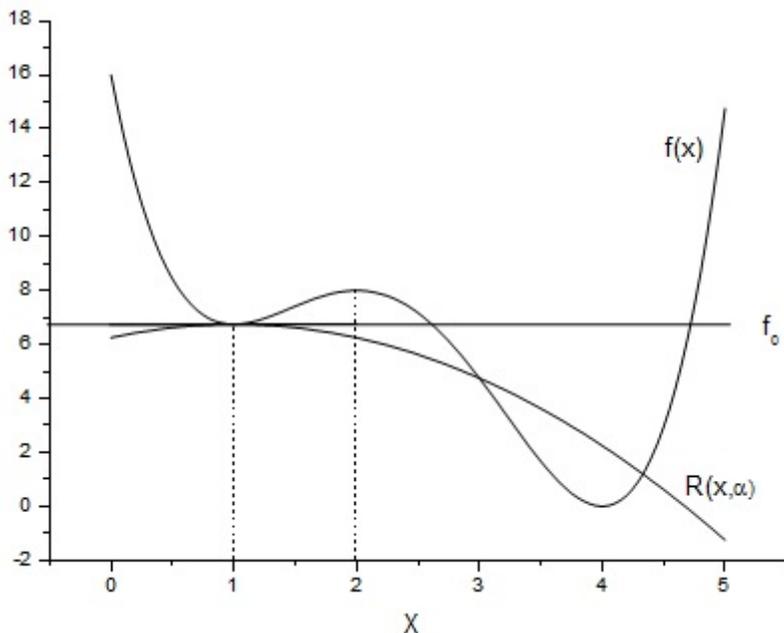


Рис. 1.

## Литература

1. Деянов Р.З. Программа глобальной минимизации R-фактора в методе газовой электронографии. / Алгоритмы и программы. Информ. бюлл. ВНИЦТИ, П006154, N3(54), с.50, 1983.
2. Деянов Р.З., Щедрин Б.М. Поиск глобального минимума функции нескольких переменных, заданной на компакте. /Сб.: Библиотека программ по структурному анализу. - М.: изд-во Моск. Ун-та, 1984, с.133-140.
3. Деянов Р.З., Щедрин Б.М. Алгоритм последовательного спуска по системе локальных минимумов. Прикладная математика и информатика № 30 , М.: Изд-во факультета ВМиК МГУ, с.46-54, 2008.
4. <http://www.xumuk.ru/encyklopedia/2008.html>
5. P.M.Morse. Diatomic molecules according to the wave mechanics. II.

- Vibrational levels. PHYSICAL REVIEW, v.34, pp.57-64, 1929.
6. J.P.K.Doye, D.J.Wales. Structural Consequences of the Range of the Interatomic Potential: a Menagerie of Clusters. J. Chem. Soc., Faraday Trans., 93, 4233, 1997.
  7. <http://physchem.ox.ac.uk/~doye/jon/structures/Morse/tables.html>
  8. Ю.Г.Евтушенко, В.У.Малкова, А.А.Станевичюс. Распараллеливание процесса поиска глобального экстремума. Автоматика и телемеханика, № 5, 2007, стр.46-58.

## **СОДЕРЖАНИЕ КАТИОНОВ НАТРИЯ, КАЛИЯ И ПЛАСТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В БУРОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ МЫШЕЙ И КРЫС ПРИ РАЗНЫХ ВИДАХ ПИЩЕВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ**

Елсукова Е.И.

Красноярский государственный педагогический университет  
им. В.П. Астафьева

545626ab80a51

Бурая жировая ткань (БЖТ) - важный термогенный орган млекопитающих с высокой скоростью клеточного обновления [5]. Зрелые бурые адипоциты выходят из клеточного цикла, но пул преадипоцитов не только компенсирует клеточные потери, но способен значительно наращивать клеточность ткани при сезонных, температурных и некоторых других адаптациях. Механизмы адаптивных изменений темпов клеточной пролиферации и дифференцировки в БЖТ, как и в других жировых тканях, изучены недостаточно. Их нарушения во второй половине онтогенеза, под влиянием рационов, стимулирующих раннее развитие резистентности к лептину, сопровождаются прогрессивным снижением клеточности БЖТ, преобладанием в ткани термогенно малоактивных гипертрофированных из-за повышенного жиросложения адипоцитов. Роль катионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в качестве модуляторов чувствительности клеток к цитокинам и гормонам давно известна [1,8]. БЖТ характеризуется нетипичным для клеток с  $\text{Na, K}$ -насосом высоким содержанием  $\text{Na}^+$  [3]. Сведений о балансе катионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в ней при структурных изменениях, сопровождающих разные виды адаптаций, особенно пищевые адаптации, недостаточно.

**Целью** работы было сопоставление содержания натрия, калия и некоторых показателей пластического обмена бурой жировой ткани при разных видах пищевых воздействий у лабораторных грызунов.

### **Методы исследования**

Тестировались два вида пищевых воздействий: 1) естественный переком в процессе грудного вскармливания в редуцированных пометах у крыс Wistar; 2) Предоставление самцам мышей ICR в качестве питьевой жидкости 30% раствора сахарозы. В первом эксперименте контрольную группу составили животные, выращиваемые в обычных пометах из 8-12 крысят; экспериментальную группу составили крысы, выращиваемые в искусственно уменьшенных до 2-3 крысят пометах через несколько ч

после рождения. Возраст животных в конце эксперимента - 16 сут (сроки окончания грудного вскармливания). Продолжительность второго эксперимента составляла 3 нед, возраст мышей к его началу - 7 нед. В обоих экспериментах животные содержались при температуре 23 °С; имели свободный доступ к гранулированному корму (БиоПро, Новосибирск). Бурый жир извлекали из межлопаточной области после декапитации животных. Белок и ДНК определяли, как ранее описано [2]. Содержание катионов в тканевых экстрактах и в плазме крови определяли пламеннофотометрическим методом [3]. Концентрацию катионов выражали в ммоль/кг клеточной массы с поправкой на их содержание во внеклеточной воде. Последнее принималось равным их содержанию в плазме крови. Объем внеклеточной воды оценивали по равновесному распределению в ткани бычьего сывороточного альбумина (БСА), сначала инкубируя кусочек БЖТ (30-40 мг) 1 ч в 6% БСА на Кребс-Рингер-фосфатном буфере, затем 1 ч в этом же буфере без БСА. Контролем служила ткань такого же веса, инкубируемая в тех же объемах буфера без БСА. В опытных и контрольных пробах определяли белок и рассчитывали внеклеточную воду по формуле:  $(V_B + V_{тк}) \cdot (V_{Б+БСА} + V_{тк}) \cdot [Б] \cdot 100 / 30 \cdot V_{тк}$ , где  $V_B + БСА$  - объем в мл раствора БСА (1 инкубация),  $V_B$  - объем буфера (2 инкубация),  $V_{тк}$  - объем ткани (1 мг = 0,001 мл),  $[Б]$  - разность концентраций белка (мг/мл) в опытной и контрольной пробах.

### **Результаты исследования**

Грудное вскармливание в искусственно редуцированных пометах - широко используемая лабораторная модель для изучения влияния перекорма в раннем онтогенезе на энергообмен и метаболизм взрослых животных [2]. В нашем эксперименте у крысят, воспитывавшихся в редуцированных пометах, к окончанию грудного вскармливания масса БЖТ, содержание в ней внутриклеточной воды не отличались от контроля, но содержание тканевого белка, ДНК снижалось (табл.1). Содержание  $Na^+$  и  $K^+$  в клеточной массе у животных из редуцированных пометов было также ниже, чем у сверстников из полных пометов на 28% и на 25% соответственно.

При предоставлении мышам сахарозы они снижали потребление корма, прирост массы тела, но масса абдоминального жира, межлопаточной БЖТ у них были выше, чем в контроле. Содержание ДНК рассчитанное на мг ткани и на всю ткань, у опытных мышей было почти в 2 раза ниже, чем в контроле (табл. 1). Эти различия, по-видимому, отражают особенности роста БЖТ при сахарозной нагрузке - угнетение клеточной пролиферации и/или усиление

клеточной гибели и гипертрофию остающихся клеток. Содержание катионов  $\text{Na}^+$  не отличалось, а содержание  $\text{K}^+$  в клеточной массе опытных мышей снижалось на 26% по сравнению с контролем.

Таким образом, на двух лабораторных моделях обнаружены близкие закономерности в динамике содержания катионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и ДНК в БЖТ при адаптации к повышенному поступлению энергосубстратов. Снижение общей клеточности, гипертрофия остающихся клеток сочеталась с уменьшением  $\text{K}^+$ , а в раннем онтогенезе также с уменьшением  $\text{Na}^+$ . Как отмечалось ранее [3], показатели содержания катионов и воды в БЖТ не согласуются с традиционным представлением о преимущественно ионизированном состоянии  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в клетках животных. Действительно, в первом эксперименте у крыс содержание  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в пересчете на клеточную воду составило в контрольной группе 128 и 188 ммоль/л соответственно; в опытной группе - 87,6 и 134,6 ммоль/л соответственно. У мышей содержание

Таблица 1. Влияние пищевого статуса на показатели пластического и водно-солевого обмена бурой жировой ткани крыс и мышей

Показатели бурой жировой ткани	16-сут крысы Wistar		10-нед мыши ICR	
	из полных пометов; n=20	из неполных пометов n=14	Обычный рацион n=10	Рацион с 30% р-м сахарозы вместо питьевой воды; n=10
Масса, мг	108,30±4,00	123,10±11,10	92,62±4,47	106,96±8,58
ДНК, мкг/мг	1,05±0,10	0,65±0,08*	0,61±0,06	0,32±0,05*
ДНК всей ткани, мкг	118,03±17,01	80,04±5,02*	54,24±4,79	29,98±4,79*
Белок, мкг/мг	135,50±4,08	110,01±7,10*	50,24±2,81	52,10±3,47
Натрий, ммоль/кг клеток	50,10±4,23	35,91±1,80*	28,84±2,73	27,21±2,07
Калий, ммоль/кг клеток	73,32±3,10	55,20±3,10*	64,76±3,37	48,39±5,01
Вода внутриклеточная, %	39,05±1,05	41,03±1,92	20,80±2,22	22,53±2,27
Вода внеклеточная, %	11,12±1,30	8,10±0,98	9,97±1,26	6,76±1,15

**Примечание:** \*  $0,001 < p < 0,05$  - статистическая значимость различий между контрольной и опытной группами по t-критерию для несвязанных выборок.

$\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в клеточной воде в контрольной группе было 144 и 324 ммоль/л и в опытной группе - 119 и 212 ммоль/л соответственно. Сходное распределение катионов было обнаружено в тканях кожи и хряща [7],

где значительная часть натрия была связана с сульфатированными группами протеогликанов плазматической мембраны клеток. Сочетание нормального или высокого содержания  $K^+$  со столь же высоким содержанием  $Na^+$ , на наш взгляд, может объясняться только наличием в БЖТ наряду с ионизированными катионами связанного пула этих ионов. В противном случае осмолярность цитоплазмы оказалась бы выше 310 мосмоль/л - верхней границы нормы этого показателя для клеток животных. Таким образом, вопрос о предполагаемых механизмах взаимоотношений между пластическим обменом и катионами  $K^+$  и  $Na^+$  не может решаться в отрыве от изучения состояния катионов в адипоцитах.

В клетках БЖТ обнаружен NG 2 протеогликан с хондроитинсульфатом, способный связывать  $Na^+$ ; экранирование его полярных групп ионами  $Na^+$  теоретически может отражаться на взаимодействии клеток с межклеточным матриксом и на зависимых от этих взаимодействий процессах адипогенеза [6]. Другой особенностью клеток БЖТ является высокое содержание фосфолипидных мембран, окружающих липидные капли [4]. Система липидных капель высокодинамична, появление новых капель, процессы их слияния сопряжены с прохождением стадий дифференцировки адипоцитов. Взаимодействие с фосфолипидами - еще один возможный способ депонирования катионов.

## Литература

1. Замай Т.Н. Феноменологическая модель ионной регуляции роста клеточных популяций в организме // Сибирское медицинское обозрение. - 2012. - №2. - С. 3-8.
2. Медведев Л.Н., Елсукова Е.И. Влияние естественного перекорма молодняка на бурую жировую ткань // Онтогенез. - 1999. - Т. 30. - С. 61-63.
3. Медведев Л.Н., Замай Т.Н., Медведева С.Е. Депонирование калия и воды в бурой жировой ткани у адаптированных к холоду крыс // Физиол.Ж.СССР. - 1987. - Т. 73. - С. 124-129.
4. Bickel PE, Tansey JT, Welte MA. Pat proteins, an ancient family of lipid droplet proteins that regulate cellular lipid stores // Biochim Biophys Acta - 2009. - Vol.1791. P. 419-440.
5. Canon B., Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance // Physiol. Rev. - 2004. - Vol. 84., N.1 - P. 277-359.
6. Chang Y., She Z., Sakimura K., Roberts A et al Ablation of NG2 Proteoglycan

- Leads to Deficits in Brown Fat Function and to Adult Onset Obesity // Plos One. - 2012. - Vol. 7, N. 1
7. Titze J., Shakibaei, M. Schafflhuber M., Schulze-Tanzil G. et al Glycosaminoglycan polymerization may enable osmotically inactive Na<sup>+</sup> storage in the skin // Am J Physiol Heart Circ Physiol. - 2004. - Vol. 287, N.1. - P. H203-208.
  8. Urrego D., Tomczak A., Zahed F., Stuhmer W et al. Potassium channels in cell cycle and cell proliferation // Phil. Trans. R. Soc. - 2014. - Vol. 369. -20130094

## **СИНТЕЗ ОРГАНИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ В НАСЫЩЕННЫХ АТОМАРНЫМ УГЛЕРОДОМ ЭЛЕКТРОЛИТАХ**

Жмудь А.А.

50a69831319a3

Сообщается о процессах выращивания (синтеза) органических тканей в биомедицинских и других целях из насыщенных атомарным углеродом электролитов. В общем случае процесс протекает по следующей схеме:

1. В раствор электролита добавляется атомарный углерод, который в присутствии катализатора растворяется в электролите.
2. Вблизи точки насыщения раствора углеродом и в присутствии катализаторов, в растворе инициируются реакции по типу:  
 $C + OH = CO + H$  и  $C + 2OH = CO_2 + 2H$ .
3. В результате раствор, достаточно быстро, перенасыщается атомарным водородом.
4. Свободный водород вступает в реакцию с атомарным углеродом, образуя углеводороды произвольного типа, в зависимости от типа используемой затравки.
5. Со временем в растворе появляется однородная органическая ткань, характеристики которой зависят от затравки, параметров и типа исходного электролита, катализаторов, других параметров раствора.

Основным достоинством описанного метода является то, что процесс выращивания ткани может проходить при комнатной температуре и при атмосферном давлении

**ВЛИЯНИЕ НАНО ЧАСТИЦЫ ФУЛЛЕРЕН (C70) , НЕКОТОРЫХ  
НЕПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ И ИХ ОКИСЕЙ НА ИЗМЕНЕНИЕ  
ТЕПЛОПРОВОДНОСТИ НИЗКОЗАМЕРЗАЮЩИХ ТОПЛИВ ПРИ  
РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ И ДАВЛЕНИЯХ (ОБЗОР И  
ЭКСПЕРИМЕНТ)**

Сафаров М.М., Зарипова М.А., Давлатов Н.Б., Иман Бахроми Маниш,  
Назруллоев А.С., Зоиров Х.А.

Филиал НИУ «МЭИ» в г. Душанбе,  
ТТУ,им. акад. М.С. Осими,г. Душанбе,  
ДГПУ им. С. Айни,г. Душанбе,  
ИПВГ и Э Академии Наук РТ г. Душанбе

5401550366514

Водные растворы широко применяются в современной технике в качестве рабочих тел, теплоносителей, химических реагентов и ракетных топлив. Они используются в химической и нефтеперерабатывающей промышленности, при разработке процессов разделения и селективной очистки, в тепло и хладотехнике, в процессах химического синтеза, при получении высокооктановых топлив, ракетных топлив и т.д. Сведения о теплофизических и термодинамических свойствах водных растворов весьма важны для познания и развития физики жидкого состояния веществ. Они необходимы для выяснения механизма межмолекулярных взаимодействий и моделей структуры растворов, процессов образования и разрушения молекулярных комплексов, с их помощью можно решить проблемы смешиваемости и растворимости, выяснить изменение степени ассоциации компонентов при смешении и др. Одним из важных теплофизических свойств жидкостей и газов являются теплопроводность и плотность, которая необходима для калорического расчета процесса и аппарата, входит в критериальные уравнения теплообмена и отражает особенности термодинамической поверхности. Большое теоретическое значение представляет собой исследование жидкостей, что связано с фундаментальными физико-химическими проблемами. Вместе с разработкой новых применений жидкостей ведутся теоретические и экспериментальные исследования их физических и физико-химических характеристик, которые, в свою очередь, определяются свойствами коллоидных частиц, их взаимодействием во внешних полях. За счет

комплексного подхода с применением классических методов статистической термодинамики, молекулярной оптики, физики магнитных явлений, физической химии, механики сплошных сред и т.д. стали возможны научные достижения в области исследования физических и физико-химических характеристик жидкостей. Уровень развития промышленности характеризуется не только объемом производства и ассортиментом выпускаемой продукции, но и показателями ее качества. Показателями качества продукции, в числе других технических характеристик, являются и их теплофизические свойства. В настоящее время изучением свойств наножидкостей активно занимаются многочисленные исследовательские группы в таких странах как США, Корея, КНР, Япония, Англия, Германия, Греция, Франция, Республики Киргизстан, Республики Татарстан, Российской Федерации, Республики Таджикистан и др., а число публикаций, посвященных наножидкостям, особенно в последнее десятилетие растет экспоненциально (Chio, 2009). В частности, опубликована монография (Das,2007) и ряд обзоров, в которых рассмотрен широкий круг вопросов от локальных свойств нано жидкостей до возможностей их практического применения (Das,2006; Ding, 2007;Wang, Mujundas, 2007; Yu,2007; Choi, 2008,2009; Wang,Wei,2009; Chandrasekar,2009; Rudak, 2000 и др.) Ракетные двигатели в настоящее время являются одним из самых распространенных типов двигателей и применяются главным образом на летательных аппаратах [1]. В настоящее время внедрение нано материалов в экономику поставлено во главу развития многих стран мира. Особенно, это важно для стран с небольшими природными ресурсами и хрупкой экологией окружающей среды. Использование нано материалов в альтернативной энергетике, медицине, сельском хозяйстве, строительстве, радиотехнике, космонавтике и др. позволит расходовать полезные ископаемые в подходящем режиме. В последние годы активно идет исследование углеродных нано трубок (УНТ), нано волокон, фуллеренов и других углеродных каркасных структур как компонентов перспективных высокотеплопроводных материалов для электроники и высокопрочного армирования конструкционных материалов. В данной работе [2] автором представлены результаты актуальных исследований самоорганизации (синергизма) наноструктур, формирующихся в результате коллективного воздействия на твердое тело импульсной плазмы, создаваемой в жидкостях (ИПЖ), природы жидкости и природы наноструктурируемого твердого тела. Одним из важных теплофизических свойств жидкостей и растворов являются теплопроводность и плотность, которые необходимы для калорического расчета процесса и аппарата,

что входит в критериальные уравнения теплообмена и отражает особенности термодинамической поверхности. Показателями качества продукции, в числе других технических характеристик, являются и их теплофизические свойства. Катализаторами роста углеродных нано материалов являются нано размерные частицы переходных и непереходных металлов, нанесенные на инертные носители из  $Al_2O_3$ , и других, препятствующие их агрегатированию [3,4]. Известно, что чистый гидразин, аэрозин, диметил гидразин, и др. в химической промышленности используется как растворитель, топлив, и их водные растворы применяются в качестве ракетных топлив [7-13]. Для интенсификации вышеназванных продуктов (ракетных топлив) и повышения октановых чисел топлив в настоящее время используются нано частицы. Разработка высокоэффективной новой техники, технологии и материалов с заранее заданными свойствами для различных отраслей народного хозяйства, как и в целом для ускорения научно-технического прогресса, невозможно без знания свойств веществ и материалов. Уровень развития промышленности характеризуется не только объемом производства и ассортиментом выпускаемой продукции, но и показателями ее качества. Одним из основных направлений повышения эффективности является улучшение качества используемых материалов и изделий. Исследования физико-химических и теплофизических свойств (теплопроводность, теплоемкость, температуропроводность, плотность) веществ имеют давнюю историю. Однако в последние годы эти исследования приобрели качественно новый характер. Для совершенствования и оптимизации технологических процессов необходимы научно обоснованные инженерные расчеты, которые нуждаются в информации о теплофизических и термодинамических свойствах рабочего вещества в широкой области изменения параметров состояния. Исследование недостоверных или даже приближенных данных по свойствам веществ в инженерных расчетах приводит к существенному завышению металлоемкости установок и снижению их технико-экономических показателей.

**Цель**, настоящей работы, заключается в исследовании теплопроводности низкотемпературных топлив, как в химическом чистом виде, так и добавленном до 3 грамм нано частицы (фуллерен, непереходных металлов и их окисей) при различных температурах и давлениях. Результаты исследования теплопроводности исследуемых низкотемпературных топлив в зависимости от температуры и давления показали, что они являются функциями температуры, давления и

массовой концентрации нано наполнителя. Для измерения теплопроводности образцов нами использован метод регулярного теплового режима первого рода [5]. Так для измерения теплопроводности исследуемых образцов использованы установка профессора Е. С. Платунова ИТ-λ-400 [6] и установки разработанным профессором Сафаровым М.М. и его учениками [5].

Общая относительная погрешность измерения теплопроводности при доверительной вероятности  $\alpha=0,95$  равна 4,1%. В работе [4] с использованием модернизированного прибора ИТ-λ-400 были проведены исследования теплопроводности насыпного слоя УНМ "Таунит" сверхвысокомолекулярного полиэтилена СВМПЭ, содержащего добавки указанного, материала, а также и без них [4]. Установлено, что теплопроводность зависит от скорости сдвига для суспензии, приготовленные из трансформаторного масла и УНМ "Таунит", при различных его концентрациях. С увеличением концентрации, наблюдается рост теплопроводности суспензии, как в её неподвижном состоянии, так и при ее течении [4]. Таким образом, задача создания методов распределения углеродных нанотрубок в полимерных материалах, обеспечивающих высокую теплопроводность получаемых композитов, в настоящее время остается актуальной. Надо отметить, что соискатели кафедры «ТТО», такие как Зарипова М.А., Тургунбоев М. Т., Раджабов Ф.С., Зоиров Х.А., Анакулов М.М., Аминов Ш. А., Зарипов Дж. А., Терехов В.И. (Новосибирск) (обзор) и др. провели исследования в этом направлении [14-30, 38,39,43-71]. Растворы гидразина в воде называются гидразингидратом. Гидразингидрат ( $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) является 64%-ным раствором гидразина в воде. Это бесцветная подвижная жидкость, хорошо растворимая в воде и в полярных растворителях, и нерастворимая в неполярных органических растворителях.

Растворение гидразина в воде - процесс экзотермический. Энтальпия и энергия Гиббса образования гидразина в растворе отличаются от термодинамических функций жидкого гидразина и соответственно равны [31-34]:  $\text{N}_2\text{H}_4(\text{P})\Delta\text{H}_0298 = 34,31$  кДж /моль,  $\Delta\text{G}_0298 = 128,03$  кДж/моль,  $\text{N}_2\text{H}_4(\text{P})\Delta\text{H}_0298 = - 7,53$  кДж /моль,  $\Delta\text{G}_0298 = 82,42$  кДж/моль. Изменение энтальпии и энергии Гиббса при растворении жидкого гидразина в воде в стандартных условиях соответственно равны [31]:  $\text{N}_2\text{H}_4(\text{Ж}) \text{N}_2\text{H}_4(\text{P})\Delta\text{H}_0298 = -16,19$  кДж/моль,  $\Delta\text{G}_0298 = -21,21$  кДж/моль. Теплота смешения гидразина и воды в эквимольных количествах при 298 К равна 3,76 кДж/моль [32]. С помощью уравнений (7) можно вычислить с погрешностью до 2% теплопроводность неисследованных наножидкостей в зависимости от давления при

комнатной температуре, для этого необходимо знать только массовое значение объектов или молярная масса неисследованных наножидкостей. Установлено, что теплопроводность, плотность, температуропроводность, исследуемых систем при заданной температуре с ростом давления увеличиваются. Эти данные опубликованы в различной литературе, (в том числе в справочниках, монографиях, диссертациях, обзорах и др.) [30,42]. Из обзора статей [30,42] непонятно, какими методами измерена теплопроводность углеродной нанотрубки численными методами или экспериментальными, для этого использованы сложности процессов в наножидкостях, начиная с их приготовления, протекания деструктивных процессов, с особенностью экспериментальной техники и достоверностью получаемых результатов. Например, для одной частицы (нанотрубка) в которой внутренние и наружные диаметры оцениваются в нанометрах, её длина измеряется в микронах, авторам удалось провести эксперимент и определить её теплопроводность. Физико-химические свойства нанотрубки, наножидкостей, наносuspensions также зависят от технологии их получения [42-71].

## **Литература**

1. Волков, Е.Б., Головков Л.Г., Сырицын Т.А. Жидкостные ракетные двигатели, М.:1970,592с
2. Сулайманкулова, С.К. Самоорганизация нано частиц при диспергировании элементов периодической системы в импульсной плазме/ Материалы Девятая Международная теплофизическая школа, "Теплофизические исследования и измерения при контроле качества веществ, материалов и изделий".// 2014, г. Душанбе, 800с
3. Мищенко, С.В., Ткачев А.Г. Углеродные наноматериалы. Производство, свойства, применение. М.: "Машиностроение", 2008, 319с.
4. Ткачев, А.Г. Углеродные наноматериалы "Таунит": исследование, производство, применение /А.Г.Ткачев и др.// Нанотехника.-2006.-№2.-С.17-21.
5. Сафаров, М.М. Теплофизические свойства простых эфиров и водных растворов гидразина в зависимости от температуры и давления. -/ Махмадали Махмадиевич Сафаров //Дис..... д-ра техн. наук. -Душанбе, 1993. -495 с (1 том).
6. Платунов, Е.С., Баранов В.И., Буравой С.Е., Курепин В.В. Теплофизические измерения: Учеб. Пособие/ Под. ред. Е. С.Платунова.-СПб.: СПбГУН и ПТ, 2010.-738с.

7. Safarov M.M., Zaripova M.A., Radzhabov F.S. Thermal capacity of aqueous aeroxine solutions as a function of temperature and pressure./Measurement Techniques. 1996. Т. 39. № 5. С. 540. Vol.1,С.12-18.
8. Тиллоева,Т.Р.,Тагоев С.,Зоиров Х.А.,Зарипова М.А.,Джураев Д. С., Сафаров М.М. Температуропроводность коллоидного раствора нано серебра в зависимости от давления при комнатной температуре/ Измерительная техника, №3. 2012. С.51-53.
9. Зарипова,М.А.Прогнозирование калорических свойств некоторых гидратинзамещенных жидкостей и углеводов/ Вестник Таджикского технического университета им.Академика М.С.-Осими. // 2008, №3, Том 3. С.12-21.
10. Зарипова, М.А., Иман Бахроми Маниш,Тургунбаев М.Т.,Тиллоева Т. Р., Сафаров М. М. Влияние нано размерной металлической частицы на изменение динамической вязкости водных растворов диметилгидразина. // Вестник педагогического университета им. С. Айни. 2013. № 5-2 (54). С. 155-159.
11. Анакулов, М. М., Зарипов Дж.А.,Назиров Ш. М.,Зарипова М. А., Сафаров М.М.// Использование теплофизических и оптических свойств системы «антифриз +графитовый порошок» для расчета эффективности солнечных коллекторов/ Измерительная техника,2012,№15,С.50-52.
12. Аминов, Ш.А., Нажмудинов Ш.З.,Зарипова М.А., Кантович Л.И., Тагоева Н.У.,Сафаров М.М. Влияние герметика на изменения удельной изобарной теплоемкости системы воды в зависимости от температуры и давления.// Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2014. № 3. С. 289-295.
13. Zoirov, H.A. Thermal conductivity and thermodynamic properties of water, ethylhydrazine solutions, Proceedings of the Thirtieth International thermal conductivity /M.M. Safarov, M.A. Zaripova, T.R. Tilloeva, H.A. Zoirov.// Conference, -2009, Pittsburg, Pennsylvania, USA, -P.841-847. (edited by Daniela S, Caal and Peter S, Gaal).
14. Zoirov, H.A. Influence nano catal to exchange of isochoric heat capacity ternary systems (hydrazine hydrate + water + oxide aluminum) in dependence temperature and pressures /H.A. Zoirov, S.A.Tagoev, M. M. Safarov, A. G. Toshov, M.A. Zaripova. // Program and Extended abstracts, of 31-th Thermal conductivity conference, 19-th ITES.-2011. Saguenay, Quebec, Canada, -P.18.
15. Zoirov, H.A. Applications: Influence of Carbon nano tube to exchange thermo physical properties of hydrazine hydrate (rocket fuel) in dependence temperature and pressures /H.A. Zoirov, M.M. Safarov, M.A. Zaripova, M.M. Anaqulov.// Shank hay, China, July, -2011.-P.456-457.

16. Zoirov, H.A. Influence carbon nano tube, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub> to exchange thermo physical properties hydrazine hydrate (rocket fuel) in dependence temperature and pressures /M.M. Safarov, H.A. Zoirov, M.A. Zaripova e.t. //8-th International Conference: Concrete in the low Carbon Era, Dundee, UK, 9-11 July, -2012. -P.13.
17. Зоиров, Х.А. Способ определения теплопроводности магнитных жидкостей методом лазерной вспышки /Х.А. Зоиров, Д.С.Джураев, М.М. Сафаров, Ш.З. Нажмудинов и др. // Патент Республики Таджикистан МПК (2006) G01. N 21/00, № ТЖ 316.-2009.- 5С.
18. Anaqulov, M.M. Thermal conductivity and specific heat capacity measurements on of Newtonian fluids in a sheet field / M.M. Safarov, M.M. Anaqulov, Sh.M. Nazirov, Sh.A. Aminov, D.S. Juraev // International conference. Warszawa. Poland, - 2008. P.34.
19. Anaqulov, M.M. Influence of Nano materials on the Exchange of Thermal Conductivity in Water / M.M. Safarov, Sh.A. Aminov, M.M. Anaqulov, G.N. Nematov, Sh.M. Nazirov, D.A. Sharifov // Conference book. 30-International Thermal Conductivity Conference and 18 International; Thermal Expansion Symposium. Pittsburg, Pennsylvania USA, August 29 -September 2-2009.-P. 25.
20. Анакулов,М.М. Влияние сажи и полимерных наноматериалов на изменение теплопроводности растворов этиленгликоля и диэтиленгликоля- /М.М.Сафаров, М.А. Зарипова, Ш.З. Нажмудинов, М. М. Анакулов, Дж.А. Зарипов, Ш.М. Назиров // Материалы 7 Международная теплофизическая школа "Теплофизические исследования и измерения в энергосбережении, при контроле, управлении и улучшении качества продукции, процессов и услуг"Ч.1,Тамбов, 20-25 сентябрь. - 2010. - С.151-152.
21. Анакулов,М.М. Теплофизические свойства системы нанотрубки + антифриз/М.М. Анакулов, М. М. Сафаров, Ш.М. Назиров, М.М. Зарипова//Науч. методич. конф. посвящ.70-летию Зиёдулло Нуриддинова, ТГПУ им. С. Айни, Душанбе.- 2010.- С.136-143.
22. Anaqulov, M.M. Influence of nano materials on the exchange of thermal conductivity in water / M.M. Safarov, Sh.A. Aminov, M.M. Anaqulov, G.N. Nematov, Sh. M. Nazirov, D.A. Shariphov // Abstracts book.30th ITCC and 18 th ITES Pittsburg. USA. - 2009. - P.25.
23. Anaqulov, M.M. Influence carbon nano tubes to exchange thermal conductivity water / M. M. Safarov, M.A. Zaripova, Sh.Z. Najmudinov, T.R.Tilloeva, Kh.S. Sodikov //18-th Symposium on Thermo physical Properties, Boulder, Colorado USA, June 24-29. - 2012.P.48
24. Aminov, Sh.A. Thermal conductivity and specific heat capacity

- measurements on of Newtonian fluids in a sheet field / Sh.A. Aminov, M.M. Anaqulov, Sh.M. Nazirov, D.S. Juraev, M.M. Safarov // International conference. Warsaw. Poland, 2008. -P.36.
25. Najmudinov, Sh.Z. Temperature conductivity of magnetic liquids (Rocket fuel) / Sh.Z. Najmudinov, M. A. Zaripova, Sh.A. Aminov, M.M. Safarov, T.R. Tilloeva, H. A. Zoirov // 17-th Symposium on Thermo physical Properties, Boulder, Colorado USA, June 21-26, 2009. -P.300.
26. Зарипова, М.А. Применение критерия Нуссельта для обработки экспериментальных данных по теплопроводности теплоносителей / М.А. Зарипова, А. Х. Бобоева, Ш.А. Аминов, Ш.З. Нажмудинов, М.М. Сафаров, Э.Ш. Тауров, Т.Р. Тиллоева, Х.А. Зоиров, Г.Н. Ньматов // Сб. трудов международной конференции "Фазовые переходы, критические и нелинейные явления в конденсированных средах". - Махачкала, 2009. -С.64-69.
27. Aminov, Sh.A. Influence of nano materials on the exchange of thermal conductivity in water / Sh.A. Aminov, M.M. Anaqulov, G.N. Nematov, D.A. Shariphov // Abstracts book. 30th ITCC and 18 th ITES 2009. Pittsburg. USA. -P.29.
28. Aminov, Sh.A. Influence nano tube to exchange specific heat capacity and density power oils and water solutions / Sh.A. Aminov, Sh.Z. Najmudinov, M.A. Zaripova, D. A. Sharifov, J.A. Zaripov, M.M. Safarov //Abstracts book 23-th National and International Meetings on Inverse Problems. 6-8 June 2010, Michigan, USA. -P.314-318.
29. Safarov, M.M., Zaripova M.A., Rajabov F.S., Davlatova V.S. Thermo physical properties of hydrazine substituted aqueous solutions under various of Temperature and Pressures. High temperature-High Pressures, v.31, 1999, London, UK, P.37-42.
30. Терехов, В.И., Калинина С.В., Леманова В.В. Механизм теплопереноса в нано жидкостях: современное состояние проблемы (обзор). Часть 1. Синтез и свойства нано жидкостей. // Теплофизика и аэродинамика, Новосибирск, 2010, Том 17, №1, С.1-15.
31. Коровин, Н.В. Гидразин. / Н.В. Коровин. // - М.: Химия, 1980. -272 с.
32. Одрит, Л. Химия гидразина. /Л. Одрит, Б. Огг. / Пер. с англ. Е.А. Яковлевой. - М.: ИЛ, 1954. - 238 с.
33. Цыкало, А.Л. Термодинамические свойства гидразина. /А.Л. Цыкало, В.К. Савенков и др.// - Рук. деп. в ВИНТИ № 536. -74с.
34. Зарипова, М.А. Применение критерия Нуссельта для обработки экспериментальных данных по теплопроводности теплоносителей. /М.А. Зарипова, Х.А. Зоиров, М.М. Сафаров, Э.Ш. Тауров, Т.Р. Тиллоева. //Сб. трудов международной конференции «Фазовые переходы, критические и

- нелинейные явления в конденсированных средах» Махачкала , 7-10 сентября 2009.С.64-69.
35. Сафаров, М.М. Теплофизические свойства водных растворов гидразина. /М.М. Сафаров, М.А. Зарипова. // Метрология, N4, 1996, -М., С.31-35.
  36. Сафаров, М.М. Взаимосвязь теплопроводности и плотности водных растворов фенилгидразина. /М.М. Сафаров, М.А. Зарипова. //ТВТ,Т.34, №2, 1996,М., С.327-330.
  37. Zariyova, M.A. Thermal conductivity of water ethylhydrazine solutions./M.A. Zariyova,T.R. Tilloeva, H.A. Zoirov,M.M. Safarov.//Abstracts book.30th ITCC and 18-th ITES 2009. Pittsburg. USA, p.26.
  38. Zoirov, H.A. Applications: Influence of Carbon nano tube to exchange thermo physical properties of hydrazine hydrate (rocket fuel) in dependence temperature and pressures. /H.A. Zoirov, M.M. Safarov, M.A. Zariyova, M.M. Anaqulov, A.G. Toshov. //Shankhay,China, July,2011, P.456-457.
  39. Zoirov, H.A. Influence carbon nanotube, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub> to exchange thermo physical properties Hydrazine hydrate (rocket fuel) in dependence temperature and pressures./H.A. Zoirov,M.M. Safarov, M.A. Zariyova. e.t.//8-th International Conference: Concrete in the low Carbon Era, Dundee, UK, 9-11 July,2012.13p.
  40. Кржижановский, Р.Е.Теплопроводность и электропроводность металлов и сплавов./ Р.Е. Кржижановский. //- М.: Металлургия, 1967. -285 с.
  41. Теплофизические свойства металлов при высоких температурах.// Зиновьев В.Е., Справочник. М.: Металлургия, 1989. 384с.
  42. Елецкий,А.В. Транспортные свойства углеродные нанотрубки //УФН. 2009. Том 179.№3. С.225-242.
  43. Assael V.I., Chen C.F., Mataxa I. and Wakeham W.A. Thermal conductivity of suspensions of carbon nanotubes in water// Inter. J.of Thermo physics. 2004. Vol.25.P.971-985.
  44. Biercuk M., Liaguno M., Radosavljevik M., Hyun J., Jonhson A., Fisher Y.J.. Carbon nanotube composites for thermal management// Appl. Phys. Lett. 2002. Vol.80.№15.P.2767-2769.
  45. Choi S.U.S. Nanofluids: A new field of scientific research and innovative application// Heat Transfer Engng. 2008.Vol 29.P.429-431.
  46. Chandrasekar M., Suresh S.A. Review on the mechanisms of heat transfer in nanotubes// Heat Transfer Engng. 2008.Vol 30. №14,P.1136-1150.
  47. Choi S.U.S., Zang Z.G.,Yu W., Lockwood F.E.,Grulke E.A. Anomalous thermal conductivity enhan cement in nanotube suspensions// Appl.Phys. Lett. 2001. Vol. 79.№14.P.2252-2254.
  48. Choi S.U.S.,Kihm K.D.Thermal conductivity enhancement of nanofluids by Brownian motion.//ASME J. Heat Transfer Engng. 2005.b,Vol 127.P.810.

49. Chon C.H., Kihm K.D., Lee S.P., Choi S.U.S. Empirical correlation finding the role of temperature and particle size for nanofluids (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) thermal conductivity enhancement. // *Appl. Phys. Lett.* 2005. a, Vol. 86. P. 153107.
50. Das S.K., Putra N., Thiesen P., Roetzel W. Temperature dependence of thermal conductivity enhancement for nanofluids. // *J. Heat Transfer.* 2003. Vol. 125. P. 567-574.
51. Ding Y.L., Alias H., Wen D.S., Williams R.A. Heat transfer of aqueous suspensions of carbon nanotubes (CNT nanofluids). // *Inter. J. Heat and Mass Transfer.* 2006. Vol. 49. P. 240-250.
52. Eastman I.A., Choi S.U.S., Li S., Thompson L.J., Lee S. Enhanced thermal conductivity through the development of nanofluids. // *Proc. Mater. Res. Soc. Symposium.*, Pittsburg, PA., USA. Boston. MA. 1997. Vol. 457. P. 3-11.
53. Eastman I.A., Choi S.U.S., Li S., Yu W., Thompson L.J. Anomalously increased effective thermal conductivities of ethylene glycol based nanofluids containing copper nanoparticles. // *Appl. Phys. Lett.* 2001. Vol. 78. P. 718-720.
54. Eastman I.A., Phillpot S.R., Choi S.U.S., Keblinski P. Thermal transport in nanofluids. // *Annu. Rev. Mater. Res.* 2004. Vol. 34. P. 219-246.
55. Evans W., Fish I., Keblinski P. Role of Brownian motion hydrodynamics on nanofluids thermal conductivity. // *Appl. Phys. Lett.* 2006. Vol. 88. P. 093116.
56. Gao L., Zhou X., Ding Y.L. Effective thermal and electrical conductivity of carbon nanotube composite. // *Chem. Appl. Phys. Lett.* 2007. Vol. 434. P. 297-300.
57. He Y.R., Jin Y., Chen H.S., Ding Y.L., Cang D.Q., Lu H.L. Heat transfer and flow behavior of aqueous suspensions of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (nanofluids) flowing upward through a vertical pipe. // *Inter. J. of Heat and Mass Transfer.* 2007. Vol. 50. P. 2272-2281
58. Hone J., Whitney M., Pisconi G., Zettl A. Thermal conductivity of single-walled thermal conductivity. // *Phys. Rev. B.* 25. 1999. P. R2614-R2516.
59. Hong K.S., Hong T.K., Yang H.S. Thermal conductivity of Fe nanofluids depending of cluster size of nanoparticles. // *Appl. Phys. Lett.* 2006. Vol. 88. P. 031901.
60. Hong T.K., Yang H.S., Choi C.J. Study of the enhanced thermal conductivity of Fe nanofluids. // *J. of Appl. Phys.* 2005. Vol. 97. №6. P. 1-4.
61. Kim S.H., Choi S.R., Kim D. Thermal conductivity of metal-oxide nanofluids: particle size dependence and effect of laser irradiation. // *ASME, J. Heat Transfer.* 2007. Vol. 129. P. 298-307.
62. Kumar D.H., Patel H.E., Kumar V.R.R., Sundararajan T., Pradeep T., Das S.K. Model for heat conduction in nanofluids. // *Physical Review Letter.* 2004. Vol. 93. P. 144301.
63. Lee S., Choi S.R., Eastman I.A. Measuring thermal conductivity of fluids

- containing oxide nanoparticles.// J.of Heat Transfer.1999.Vol.121. P.280-289.
64. Li C.H.,Peterson G.P. Mixing effect on the enhancement of the effective thermal conductivity of nanoparticle suspensions (nanofluids).// Inten.J.of Heat and MassTransfer.2007.Vol.50. P.4668-4677.
65. Liu M.-S.,Lin M.,Ching-Cheng, Huang I.T., Wang C.-C. Enhancement of thermal conductivity with carbon nanotube for nanofluids.// Inter.Comom.in Heat and MassTransfer.2005.Vol.32.№9. P.1202-1210.
66. Marshed S.M.S., Leong K.C., Yahg C. Enhanced thermal conductivity of TiO<sub>2</sub> -water based nano-fluids.// Inter.J.of Thermal Scences.2005.Vol.44.№4. P.367-373.
67. Prasher R., Bhattacharya P., Phelan P.E. Thermal conductivity of nanoscale colloidal solution (nano-fluids).//J.of Physical Review Letter. 2005.Vol.94. P. 025901.
68. Wen D.S., Ding Y.L. Effective thermal conductivity of aqueous suspensions of carbon nanotubes (carbon nanotubes, nanofluids).//J.of Thermophysical and Heat Transfer.2004.a,Vol.18. №4. P.481-485.
69. Xie H., Wahg J.,Xi T., Liu Y.,Ai F., Wu Q. Thermal conductivity enhancement of suspensions containing nanosized alumina particles.//J.of Appl. Phys. 2002.a, Vol.91. №7. P.4568-4572.
70. Zhang , X., Gu H., Fujii M. Effective thermal conductivity and thermal diffusivity of nanofluids containing spherical and cylindrical nanoparticles.// J.of Appl. Phys.2006.Vol.100. №4.P.044325.
71. Zhu H., Lin Y., Yin Y. A novel onestep chemical method for preparation of copper nanofluids.// J. of Colloid and Interface Sceince.2004.Vol.227.P.100-103.

## **АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МРНК БЕТА-КАТЕНИНА (CTNNB) И ЦИКЛИНА D1 (CCND1) В ЖИДКОСТНЫХ ОБРАЗЦАХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Исаева А.В., Зима А.П., Саприна Т.В., Латыпова В.Н., Березкина И.С.,  
Касоян К.Т., Брынова О.В.

ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России,  
ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России,  
ГАУЗ МГОБ №62 ДЗМ

546290efed25b

Wnt/ $\beta$ -катенин сигнальный путь является одним из фундаментальных механизмов, который отвечает за клеточную пролиферацию, клеточную дифференцировку и тканевой гомеостаз, и его дисрегуляция может лежать в основе опухолевой трансформации клеток [1,2]. Активация данного сигнального пути осуществляется белками семейства Wnt. В отсутствие Wnt белков  $\beta$ -катенин находится на поверхности клетки в связанном состоянии с E-кадгерином; несвязанный цитоплазматический  $\beta$ -катенин деградирует в протеасомах под действием белкового комплекса, включающего Axin, APC, киназы CK1 и GSK3 $\beta$  [3]. Связывание Wnt белка с мембранными рецепторами Fzd и LRP5/6 и белком Dvl, восстанавливает Axin, который высвобождает  $\beta$ -катенин из белкового комплекса [4]. Итогом является активация транскрипции генов-мишеней  $\beta$ -катенина (с-мус, CCND1, E2f1, Axin-2, vimentin, Snail и др.). Циклин D1 является ключевым регулятором фазы G1 клеточного цикла [5]. Экспрессия гена *циклин D1 (CCND1)* увеличена при многих злокачественных новообразованиях.

**Цель данного исследования** состояла в изучении экспрессии генов  *$\beta$ -катенина (CTNNB)* и *циклина D1 (CCND1)* при дифференцированном раке щитовидной железы (папиллярный рак, фолликулярный рак).

**Материалы и методы:** Материалом исследования служили аспираты, полученные путем тонкоигольной аспирационной биопсии ткани щитовидной железы под контролем УЗИ. Образцы ткани щитовидной железы были забраны от 19 пациентов с папиллярным раком, 5 пациентов с фолликулярным раком, 10 пациентов с фолликулярной аденомой и 20 пациентов с узловым зобом, включая 10 образцов ткани из узла щитовидной железы и 10 образцов нормальной ткани вне узлового образования (контроль). Проводился традиционный

цитологический анализ и анализ препаратов, полученных методом жидкостной цитологии (для этого материал был помещен в жидкий стабилизирующий раствор «CYTO-FAST Solution» (HOSPITEX DIAGNOSTICS, Италия)). Для количественного определения уровня мРНК генов  $\beta$ -катенина (*CTNNB*) и циклина D1 (*CCND1*) использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Полученные результаты были соотнесены с заключениями традиционного цитологического анализа, жидкостной цитологии и гистологического заключения.

**Результаты:** В результате проведенного нами исследования были найдены статистически значимые различия в экспрессии  $\beta$ -катенина (*CTNNB*) в зависимости от нозологической формы узловой патологии щитовидной железы ( $p < 0,05$ ). Значительная разница в уровнях экспрессии данного маркера наблюдалась у пациентов с папиллярным и фолликулярным раком щитовидной железы, 1,25 (1,04 - 1,78) и 9,71 (7,00 - 11,81) соответственно. Однако уровень экспрессии мРНК  $\beta$ -катенина статистически не различался в следующих группах пациентов: с фолликулярным раком (9,71 (7,00 - 11,81)), аденомой (8,65 (7,12 - 10,95)), аутоиммунным тиреоидитом (7,85 (6,10 - 8,70)). Таким образом, в случаях папиллярного рака щитовидной железы у пациента экспрессия мРНК  $\beta$ -катенина уменьшается по сравнению с образцами, полученными из участка коллоидного зоба и вышеперечисленных нозологических форм (фолликулярного рака, фолликулярной аденомы и тиреоидите). После проведения анализа в выделенных группах пациентов наше исследование определило прогностическую значимость гиперэкспрессии циклина D1 в опухолевых клетках. Так, у пациентов с папиллярным раком щитовидной железы с наличием отдаленных метастазов уровень мРНК циклина D1 (*CCND1*) составил 23,5 (19 - 25,4), что статистически значимо выше по сравнению с группой контроля и у пациентов без отдаленных метастазов.

**Заключение:** Наши данные показывают, что изменение экспрессии мРНК  $\beta$ -катенина (*CTNNB*) может выступать в качестве диагностического маркера в группе пациентов с дифференцированным раком щитовидной железы. Определение уровня экспрессии мРНК циклина D1 (*CCND1*) может быть использовано в качестве прогностического маркера отдаленных метастазов папиллярного рака щитовидной железы.

**Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации, № НШ-4184.2014.7**

## **Литература**

1. Clevers, H., Nusse, R. (2012) Wnt/b-Catenin Signaling and Disease, *Cell*, 149, 1192-1205.
2. Polakis, P. (2000) Wnt signaling and cancer, *Genes Dev.*, 14, 1837-1851.
3. Valenta, T., Hausmann, G., Basler, K. (2012) The many faces and functions of b-catenin, *EMBO J.*, 31, 2714-2736.
4. Kimelman, D., Xu, W. (2006) b-Catenin destruction complex: insights and questions from a structural perspective, *Oncogene*, 25, 7482-7491.
5. Musgrove E.A., Caldon E.C., Barraclough J., Stone A., Sutherland R.L. (2011) Cyclin D as a therapeutic target in cancer, *Nature Rev.Cancer*, 11, 558-572.

---

## **ФУНГИЦИДНЫЕ И РОСТ-СТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ БИОНАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, СИНТЕЗИРОВАННЫХ «ЗЕЛЕНЫМ» МЕТОДОМ**

Камалиева Р.Ф., Абдрахимова Й.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

54315adf845f3

В настоящее время большой интерес представляет «зеленый» синтез бионаночастиц (БНЧ), в частности на основе ионов серебра в сочетании с экстрактами лекарственных растений, которые оказывают усиленную антимикробную активность (Yasin et al., 2013). Нами было изучено действие БНЧ серебра, модифицированных соком чистотела большого, на всхожесть семян и ростовые процессы проростков озимой пшеницы (с.Казанская 560) при инфицировании специфическим патогеном *Fusarium oxysporum*. Инфицирование фитопатогеном подавляло изучаемые процессы более чем на 50%, тогда как обработка БНЧ полностью снимала данный негативный эффект. При этом нами выявлена стимуляция ростовых процессов при действии БНЧ, особенно выраженная для корней как зараженных, так и контрольных растений – в 8 и 6 раз, соответственно. Следует также отметить, что использование сока *Ch.majus* при малых разведениях вызывало ингибирование энергии прорастания семян и линейных размеров проростков по сравнению с контролем, а на фоне БНЧ, синтезированных с аналогичной концентрацией сока, эти токсические эффекты не наблюдали.

### **Литература**

1. S.Yasin, S.Yasina, L. Liua. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Bamboo Leaves Extract and Their Antimicrobial Activity//Journal of Fiber Bioengineering and Informatics(2013) 77-84

## **ТЛИ (INSECTA, HOMOPTERA, APHIDIDAE) В СКРИНИНГЕ ТОКСИЧНЫХ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

### **APHIS (INSECTA, HOMOPTERA, APHIDIDAE) IN THE SCREENING OF TOXIC HIGH-MOLECULAR COMPOUNDS**

Книсс В.А. (Kniss Vladimir)

Башкирский государственный университет, г. Уфа  
(Bashkir State University, Ufa)

545a3ca5b99e4

#### **Аннотация**

*Использование природных популяций тлей (Insecta, Homoptera) рода Aphis в скрининге на начальных стадиях испытаний токсичности ВМС, сокращает сроки получения результатов и уменьшает финансовые затраты.*

**Ключевые слова:** насекомые, тли, (Aphididae), скрининг, токсичность.

#### **Abstract**

*The use of natural populations of aphid (Insecta, Homoptera) of the genus Aphis in the screening at the initial stages of the tests of toxicity HMC, it reduces the periods of obtaining results and decreases the financial expenditures.*

**Keywords:** insects, aphids, (Aphididae), screening, toxicity.

На сегодняшний день одно из ведущих мест по степени востребованности научных результатов в биологии и фундаментальной медицине занимает проблема безопасности применяемых и готовых к использованию лекарственных средств на основе высокомолекулярных соединений (ВМС). Существуют комплексные программы целенаправленных исследований по оценке безопасности и потенциальных рисков, связанных с такого рода материалами. Последнее обстоятельство является важнейшим фактором, регламентирующим промышленное производство продукции ВМС и внедрение в здравоохранение и другие отрасли, о чём можно судить хотя бы по значительному числу уже имеющихся публикаций [4, 6,10].

Именно поэтому в России была утверждена разработанная Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека совместно с ведущими научными центрами и

НИИ РАМН, Минобрнауки РФ и Роспотребнадзора «Концепция токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения» [10,11]. И с этих позиций исследования влияния вновь синтезируемых ВМС на организм человека, разработка методов, позволяющих получать достоверную информацию, являются в настоящее время чрезвычайно актуальными.

Необходимо отметить, что на сегодняшний день для большинства испытуемых веществ не известны механизмы поступления, степень биологической совместимости, биотрансформации, транслокации в органах и тканях, и, что особенно важно, их токсичности. Имеются лишь фрагментарные данные по их воздействию на экосистемы в целом, либо на популяции как части экосистем [2,13, 15].

Общеизвестно, что эксперименты по воздействию органических соединений на живые организмы и постоянно проводятся на отдельных видах животных (дафнии, рыбы, мыши, крысы) и растений (кукуруза, соя, капуста, табак). Как правило, изучается лишь однократное воздействие, затрагивающее незначительную часть жизненного цикла организма модели [1, 3, 6]. Накопленный опыт показывает, что каждое ВМС необходимо изучать индивидуально, с учетом его структуры, химического состава, растворимости и прочих значимых факторов [4, 14].

В результате проводимых исследований число необходимых затрат для такого рода испытаний постоянно растёт. В этой связи наиболее актуальными проблемами в токсикологии являются:

- необходимость получения данных о качественной и количественной идентичности токсикопоявлений для ВМС;
- малая воспроизводимость научных результатов, полученных в сторонних лабораториях;
- сложность в экстраполяции данных, полученных *in vitro*.
- необходимость оснащения лабораторий принципиально новым дорогостоящим оборудованием.

Согласно рекомендациям [10,11], оценку безопасности при работе с ВМС целесообразно проводить поэтапно, начиная с изучения и описания их физико-химических свойств, включая их строение и форму, а также методы измерения количества и концентрации испытуемых соединений в объектах окружающей среды.

Как и для ранее изученных токсикантов, миграция ВМС в окружающую среду и последующее их воздействие на живые организмы связано со следующими процессами:

- поступлением с вдыхаемым воздухом через легкие (ингаляция);

- с пищей и водой через желудочно-кишечный тракт;
- контактно, через кожные покровы и слизистые оболочки;
- воздействием на окружающую среду загрязненных поверхностей;
- поступлением в кровеносную систему водных организмов через жаберный аппарат и покровы тела.

Поскольку барьерные функции организма не служат препятствием для такого рода веществ, они способны накапливаться в любых системах, и могут быть токсичны как для человека, так и для флоры и фауны в целом [4, 9, 17].

Новые подходы к животным-моделям с позиций контроля и оценки в токсикологических исследованиях

Во многих случаях (особенно, если необходимо получить предварительные результаты для выявления наиболее перспективных соединений) применяют тест-программы, основанные на использовании подопытных животных. Мировой опыт показывает, что в токсикологических исследованиях наиболее часто используемыми видами являются мыши (до 50%), крысы (16%), птицы (4%). Перспективны и модели с использованием рыб и других гидробионтов, а также растений, насекомых, бактерий и развивающихся эмбрионов животных [6, 9,13,15].

Анализ результатов, полученных в ходе первичных токсикологических (доклинических) экспертиз показывает, что внедрению тест-программ для целей определения потенциальной токсичности ВМС с использованием беспозвоночных (пойкилотермных) животных уделяется мало внимания. Именно поэтому поиск животных непосредственно в природных экосистемах и их применение в качестве тест-объектов, представляется в настоящее время наиболее перспективным.

Приемлемыми на сегодняшний день считаются многокомпонентные системы биотестирования, в составе которых - высокочувствительные прокариотические и эукариотические организмы, всесторонне изученные и хорошо растущие в лабораторных условиях. Причём, одним из важных условий успешного проведения тестирования является использование генетически однородных культур лабораторных животных, используемых в качестве биоиндикаторов, так какш они предварительно проходят соответствующую апробацию, содержатся в специальных, оговоренных стандартами, лабораторных условиях, обеспечивающих необходимое воспроизводство результатов исследований, а также максимально чувствительных к токсическим веществам. Иначе говоря, животные должны иметь одинаковый вес,

диету, быть свободными от болезней и находиться в контролируемой (лабораторной) среде. Они также должны быть одинаковы по реакции на токсичность, которую предполагается измерять. Вместе с тем надо иметь в виду, что каждый организм имеет комплекс индивидуальных особенностей, включающий генетические и негенетические компоненты, что заведомо предполагает их соответствующий контроль, однако в этом направлении пока не делается даже попыток.

Еще В. Рассел и Р. Барч (Russell and Burch) указывали, что «в токсикологических тестах следует использовать гетерогенных животных», что при оценках ВМС не только желательным, но и обязательным условием [20].

Разумеется, никто не будет создавать новую линию, моделирующую те или иные особенности животных для исследования какого-либо вновь синтезируемого ВМС. Проблема в том, что на уже апробированных биотестах можно просто не увидеть возможные риски и потенциальные опасности испытуемых веществ. Однако по мере накопления сведений о конкретных свойствах и особенностях их воздействия на ткани и органы, будут сформулированы и соответствующие требования к животным-моделям. А последующие процедуры оценки функционирования их тканей и органов могут послужить хорошей базой для получения требуемых данных и контроля.

Важно, что такие пути уже существуют на основе присутствующего в популяциях животных эффекта фенотипического полиморфизма.

В Отчете международного семинара 2000 года по методам *in vitro* для оценки системы острой токсичности (Report of the International Workshop on *in vitro* Methods for Assessing Acute Systemic Toxicity) указывается, что нет необходимости проводить тесты для выявления всех специфичных эффектов по влиянию на органы в моделях *in vitro*. Вместо этого, вполне достаточно провести тестирование энергетического метаболизма и способности ВМС нарушать функции эпителиального барьера [5]. Кроме того, не существует методов *in vitro* для прогноза острой токсичности в опытах с ингаляциями, хотя некоторых насекомых можно использовать в качестве моделей для такого рода экспериментов [17, 19].

Однако с этим положением можно поспорить, если считать, что применение отдельных, подходящих для скрининга, гетерогенных животных, взятых непосредственно из природных экосистем, способно дать более точные результаты. В этом случае абиотические факторы внешней среды, непосредственно влияющие на процессы адаптации выбранной для биотестирования популяции организмов, будут играть лишь положительную роль, поскольку такие зоотест-системы способны

не только показать степень токсичности испытуемого вещества, но и, по результатам соответствующих биохимических методик, выявить пороговые значения потенциальной способности к выживанию самих животных - биоиндикаторов. Последнее обстоятельство, на наш взгляд, особенно актуально, поскольку на основе таких данных можно прогнозировать прямое или опосредованное воздействие полученных биопрепаратов и лекарственных средств на другие животные и растительные организмы.

На наш взгляд, желаемый эффект в этом направлении может быть достигнут исключительно за счет использования гетерогенных линий высших насекомых (Pterygota), которые имеют комплекс определённых, подходящих для такого рода исследований, биологических особенностей. Поэтому здесь необходимы новые подходы к порядку и последовательности экспериментов по оценке вновь синтезированных химических соединений на гетерогенных организмах, принципы которых уже разработаны и оптимизированы.

В связи с тем, что начальный этап скрининга в условиях *in vivo* включает определение общего цитотоксического воздействия, наиболее удобными объектами для этого являются встроенные в экосистему эвритопные виды насекомых, популяции которых обладают широкой экологической валентностью и удовлетворяют следующим требованиям:

1. Массовое присутствие в природе, высокие адаптивные возможности, свойственные данной группировке в целом, и, в то же время, принципиально не отличающиеся от аналогичных механизмов целого ряда других таксонов членистоногих;
2. Способность к стабильной и длительной партеногенетической репродукции, как в природе, так и при лабораторном содержании.

И с этой точки зрения, наиболее подходящей группой являются представители отряда Равнокрылые хоботные - Homoptera из семейства Тли (Aphididae). Повсеместное обилие и разнообразие этих насекомых, структурная стабильность сообществ, быстрый оборот поколений и относительная толерантность к антропогенным воздействиям делают эту группу удобным модельным объектом для решения общих и частных проблем в области токсикологии по самым различным направлениям. В частности, становится вполне реальной возможность прогноза действия микродоз токсикантов, встраиваемых в урбанизированные среды, с последующей оценкой роли последних в экосистемах.

С экономической точки зрения предложенный нами метод скрининга с использованием популяций тлей рода *Aphis*, значительно сокращая сроки получения достоверных данных относительно активности

испытуемых соединений, позволяет, вместе с тем, ускорить исследования биологических свойств веществ, и, вместе с тем, значительно уменьшить финансовые затраты на их изучение (особенно на ранних стадиях испытаний, когда необходимо выявить среди них наиболее перспективные).

Ниже мы приводим краткую характеристику некоторых представителей семейства скрининга.

Тли – мелкие (0,5–6 мм), нежные насекомые с мягким хитиновым покровом. С появлением листвы весной и до наступления осенних холодов живут большими колониями на растениях, питаясь их соками. Многие виды выделяют сладкие экскременты, называемые медвяной росой. Именно этими выделениями питаются контролирующие популяцию муравьи.

Жизненный цикл тлей связан со сменой поколений и видов кормовых растений. Например, у черемухово-овсяной тли (*Rhopalosiphum padi*) отложенные самками оплодотворенные яйца зимуют на черемухе. Весной из них выходит бескрылое партеногенетическое поколение самок-основательниц, которые способны к партеногенезу (размножению без оплодотворения). В этом случае из яиц, сформированных в половых путях этих самок, отрождаются и выходят во внешнюю среду личинки только самок, из которых, затем, формируются взрослые, но уже крылатые формы, предназначенные для расселения. Они перелетают на другой вид кормового растения – овес, где в свою очередь дают несколько поколений бескрылых самок.

С наступлением осенних холодов появляются особые тли – самки-полоноски, которые откладывают на посевы овса яйца двух типов. Из крупных яиц выходят крылатые самки, а из мелких – крылатые самцы. После спаривания самцы погибают, а самки перелетают на черемуху и откладывают оплодотворенные яйца, предназначенные для перезимовки.

Тля яблонная зеленая (*Aphis pomi*) развивается на яблоне, груше или других розоцветных, без смены видов кормовых растений и, поэтому, наиболее пригодна для скрининга.

Выбор группы Homoptera основан на общеизвестных данных о высокой плодовитости этих насекомых, в сравнении с традиционно используемыми культурами животных других таксонов.

Следует заметить, что существуют методы сравнительной оценки важности проекта исследований и тех страданий, которые при выполнении его будут испытывать животные – модели, что позволяет ответить на вопрос, насколько последний оправдан [18]. Исходя из этого, В. Рассел и Р. Берч предложили концепцию "трех R" ("The three Rs"),

которой следует придерживаться при проведении экспериментов на животных [20]. Она представлена тремя составляющими: replacement – замена животных живыми клетками тканей, reduction – уменьшение количества животных в эксперименте и refinement - повышение качества исследований.

Иначе говоря, исследователь, предполагая использовать в эксперименте животных должен помнить, что на нем лежит ответственность за их общее состояние. Животные должны содержаться в хороших условиях, получать достаточно корма и обслуживаться квалифицированными специалистами. При планировании экспериментов нужно чётко определить, действительно ли необходимы на данном этапе опыты на животных. Необходимо и тщательное изучение литературы, чтобы выяснить, не получены ли аналогичные результаты другими исследователями. В нашем же случае речь совершенно не идёт об этической составляющей, которая в той или иной мере всегда сопровождает подобные эксперименты.

## **Литература**

1. Бойкова Э. Е. Применение простейших в токсикологических исследованиях // Экспериментальная водная токсикология. Рига: Зинатне. -1991. - Вып. 15. - С. 155-164.
2. Бондаренко Д.А., И.А. Дьяченко, Д.И. Скобцов, А.Н. Мурашев. In vivo модели для изучения анальгетической активности // Биомедицина, 2011. - № 2. - С. 84-94.
3. Брагинский Л.П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* Str. и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор) // Гидробиол. журн. - 2000. - Т. 36, N 5. - С. 50-70.
4. Глушкова А.В., Радилов А.С., Рембовский В.Р. Нанотехнологии и нанотоксикология - взгляд на проблему // Токсикологический вестник. - № 6. - 2007. - С.4-8.
5. Елизарова О.Н., Рязанова Р.А. Клеточные культуры как биологическая модель в токсикологических исследованиях: научный обзор // Сер. «Гигиена». М., 1982. 60 с.
6. Жмур Н.С. Государственный и производственный контроль токсичности методами биотестирования в России. М.: Международный дом сотрудничества, 1997. -114 с.
7. Кобаяси Н. Введение в нанотехнологию. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2007. - 134 с.
8. Логинова С. Я., С. В. Борисевич, В. А. Максимов, В. П. Бондарев //

- Оценка токсичности неспецифических медицинских противовирусных средств, предназначенных для профилактики и лечения опасных и особо опасных вирусных инфекций //Антибиотики и химиотерапия, 2009. - № 54. - С. 3-4.
9. Максимюк Н.Н. Определение биологической активности биопрепаратов с использованием тест-культуры инфузорий *Tetrahymena pyriformis*/ Н.Н. Максимюк, Л.Я. Телишевская // Инфузории в биотестировании: Тез. междунар. научно-практ.конф.- СПб., 1998.- С. 234-237.
  10. Методические рекомендации по выявлению наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека. Методические рекомендации... - М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 . - 35 с.
  11. Оценка безопасности наноматериалов *in vitro* и в модельных системах *in vivo*: Методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. - 69 с.
  12. Подунова Л.Г.(ред.) Альтернативные методы исследования (экспресс-методы) для токсикологической оценки материалов, изделий и объектов окружающей среды. Методическое пособие. - М.: 1999. - 109 с.
  13. Семакова А.П. Использование лабораторных животных в практике работы с особо опасными инфекциями // Инфекция и иммунитет. - 2012. - Т. 2. - № 1-2. - С. 566.
  14. Соловский М.В., Еропкин М.Ю., Еропкина Е.М Исследование токсичности *in vitro* и *in vivo* полиакриламида и некоторых анионных сополимеров акриламида //Токсикологический вестник, 2012. - № 2.- С. 24-26.
  15. Isomaa, B. et al., 1994. Aquatic toxicology *in vitro* : a brief review. ATLA 22. - P. 243-253.
  16. Isomaa, B. et al., 1994. The urgent need for *in vitro* tests in ecotoxicology. Toxic. *in vitro*. - Vol. 9. - P. 821-825.
  17. Ji J.H. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats // Inhalation Toxicology 2007. - Vol. 19. Iss. 10. - P. 857-71.
  18. Morton D.B. and Griffiths P.H.M. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assesment //Vet. Rec.H. - 1985. - V. 116. - P. 431-436.
  19. Oberdorster E. Manufactured nanomaterial (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass // Environ. Health Perspect. - 2004. - Vol. 112(10). - P. 1058-1062.
  20. Russell W.M.S. and Birch R.L. The principles of humane experimental technique. - Methuen. - London,1959. - 238 p.

---

**ИНГИБИРОВАНИЕ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ МИТОХОНДРИЙ  
ПЕЧЕНИ КРЫСЫ СТИМУЛИРОВАЛО ОТКРЫТИЕ  
Tl<sup>+</sup>-ИНДУЦИРОВАННОГО КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМОГО  
НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО КАНАЛА В ИХ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЕ**

Коротков С.М., Брайловская И.В., Емельянова Л.В., Коновалова С.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург

546073a0b0511

Известно, что закрытие АТФ-зависимого (миток<sub>АТФ</sub>) или кальций-активируемого (миток<sub>Ca</sub>) калиевых каналов митохондрий способствовало открытию кальций-зависимого неспецифического канала (КЗНК) во внутренней митохондриальной мембране в экспериментах с изолированными клетками и митохондриями (Ardehali, O'Rourke, 2005; Halestrap et al., 2007; Kupsch et al., 2007). Ранее мы обнаружили, что в средах с TlNO<sub>3</sub> во внутренней мембране митохондрий печени крысы, нагруженных Ca<sup>2+</sup>, происходило открытие Tl<sup>+</sup>-индуцированного КЗНК (Korotkov, Saris, 2011). В результате этого снижалось дыхание митохондрий, находящихся в базальном состоянии или разобщённых 2,4-динитрофенолом (ДНФ), и уменьшался потенциал на их внутренней мембране ( $\Delta\Psi_{\text{мито}}$ ). С другой стороны, сжатие набухших в бескальциевой среде с TlNO<sub>3</sub> и KNO<sub>3</sub> митохондрий после внесения в неё сукцината сменялось их массивным набуханием в аналогичных опытах с Ca<sup>2+</sup> (Korotkov, Saris, 2011). Блокатор миток<sub>АТФ</sub> (5-гидроксидеканоат) стимулировал открытие Tl<sup>+</sup>-индуцированного КЗНК независимо от присутствия в среде активаторов этого канала, диазоксида или пинацидила. Наличие 5-гидроксидеканоата в среде с Ca<sup>2+</sup> привело к дополнительному увеличению набухания митохондрий и к ещё более заметному снижению  $\Delta\Psi_{\text{мито}}$  и дыхания митохондрий, разобщённых ДНФ. Некоторое снижение Ca<sup>2+</sup>-индуцированного набухания в опытах с диазоксидом могло быть результатом определенного ингибирования транспорта сукцината в митохондрии. Способность митохондрий удерживать кальций была заметно снижена в присутствии 5-гидроксидеканоата (блокатора миток<sub>АТФ</sub>) или паксиллина (блокатора миток<sub>Ca</sub>). Полученные результаты позволяют предположить, что ингибирование калиевых каналов митохондрий (миток<sub>АТР</sub> от миток<sub>Ca</sub>)

стимулирует открытие  $Tl^+$ -индуцированного КЗНК во внутренней мембране митохондрий печени крысы, нагруженных ионами  $Ca^{2+}$ .

### **Литература**

1. Ardehali H., O'Rourke B. // Mitochondrial KATP channels in cell survival and death. J. Mol. Cell. Cardiol. (2005) V. 39. № 1. P. 7-16.
2. Halestrap A.P., Clarke S.J., Khaliulin I. // The role of mitochondria in protection of the heart by preconditioning. Biochim. Biophys. Acta. (2007) V. 1767. № 8. P. 1007-1031.
3. Korotkov S.M., Saris N.E. // Influence of  $Tl^+$  on mitochondrial permeability transition pore in  $Ca^{2+}$ -loaded rat liver mitochondria. J. Bioenerg. Biomembr. (2011) V. 43. № 2. P. 149-162.
4. Kupsch K., Parvez S., Siemen D., Wolf G. // Modulation of the permeability transition pore by inhibition of the mitochondrial KATP channel in liver vs. brain mitochondria. J. Membr. Biol. (2007) V. 215. № 2-3. P. 69-74.

## **СОСТАВ ЛИПИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ДОНОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *IL6* И *TNF***

Курбатова И.В., Топчиева Л.В., Малышева И.Е., Корнева В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН),

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет» (ПетрГУ)

5444e97336ae1

В настоящее время имеются многочисленные свидетельства вовлечения провоспалительных белков, таких как интерлейкин 6 (*IL6*) и фактор некроза опухоли альфа (*TNF $\alpha$* ), в этиологию и патогенез артериальной гипертензии [1]. В плазме гипертензивных пациентов концентрация этих цитокинов, как правило, выше, чем у доноров контрольной группы, а повышение их содержания у здоровых лиц предшествует будущему увеличению систолического давления [1]. По данным литературы, увеличение содержания *IL6* и *TNF $\alpha$*  в плазме может приводить к изменению липидного профиля и гиперлипидемии, являющейся важным фактором риска развития атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний [2, 3]. Продукция цитокинов в организме определяется рядом факторов, в том числе наличием однонуклеотидных замен в регуляторных областях генов, кодирующие эти белки [4]. Однако вопрос о том, влияет ли полиморфизм генов *IL6* и *TNF* на состав липидов, остается открытым.

**Цель исследования** – изучить состав липидов плазмы крови у здоровых и больных ЭАГ (I-II стадии) доноров, имеющих разные генотипы по -308G>A полиморфному маркеру гена *TNF* и -572G>C маркеру гена *IL6*.

Для анализа использовано 117 образцов цельной крови доноров контрольной группы и 119 образцов цельной крови пациентов с ЭАГ. Средний возраст доноров контрольной группы составил 33,10±1,07, пациентов с ЭАГ 49,08±1,58. ДНК выделяли с помощью набора AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit («Ахуген», США). Генотипирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ. Для амплификации промоторной части

гена *TNF*, включающей позицию -308, использовали праймеры, описанные в работе [5]. Для амплификации участка гена *IL6*, включающего позицию -572, использовали праймеры, описанные в работе [6]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), используя реакционную смесь Master Mix (ThermoFisher, Германия). ПЦР-продукты, соответствующие участку гена *TNF*, обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *NcoI* (1 е.а.) («Fermentas», Латвия), соответствующие участку гена *IL6* - *MbiI* («Fermentas», Латвия) в течение 3-5 ч при 37°C. Продукты рестрикции разделяли в 6% полиакриламидном геле (*TNF*) или 2% агарозном геле (*IL6*), используя трис-ацетатный буфер. Концентрацию в плазме крови общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) определяли в автоматическом режиме на биохимическом анализаторе «COBAS INTEGRA 400 PLUS» («Roshe Diagnostics GmbH», ФРГ-Австрия-США), холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) - расчетным методом по [7].

Показано, что у больных ЭАГ (I-II стадии) уровень ЛПВП в плазме крови достоверно ниже ( $p=0,0135$ ), чем у доноров контрольной группы (табл. 1). Другие показатели липидного спектра (ОХС, ЛПНП, ТГ) в плазме доноров из обеих групп достоверно не отличались. Обнаружены различия в уровне ОХС и ЛПНП в зависимости от генотипа по -572G>C полиморфному маркеру гена *IL6* в группе пациентов с ЭАГ. У носителей GC и CC генотипов содержание ОХС и ЛПНП было выше, чем у гомозигот по аллелю G (табл. 2). Отмечена тенденция к повышению уровня ТГ у пациентов с ЭАГ, имеющих GC и CC генотипы.

Таблица 1. Липидный спектр доноров

Показатель	Контроль (n=117)	ЭАГ (I-II стадии) (n=119)
ОХС, ммоль/л	6,67±0,32	6,41±0,24
ЛПНП, ммоль/л	4,55±0,29	4,22±0,20
ЛПВП, ммоль/л	1,41±0,06	1,25±0,04*
ТГ, ммоль/л	1,55±0,17	1,73±0,10

**Примечание:\*** - достоверное отличие по сравнению с контролем ( $p<0,05$ )

В контрольной группе доноров влияние генотипов по -308G>A полиморфному маркеру гена *TNF* на состав липидов не обнаружено. У гипертензивных доноров, имеющих GA и AA генотипы по -308G>A полиморфному маркеру гена *TNF*, уровень ЛПВП был достоверно ниже. Также следует отметить тенденцию повышения содержания ОХС, ЛПНП и ТГ у носителей этих генотипов из группы пациентов с ЭАГ.

Таблица 2. Липидный состав здоровых и больных ЭАГ доноров в зависимости от генотипов по полиморфным маркерам генов *IL6* и *TNF*

Маркер	Группа	Генотип	ОХС, ммоль/л	ЛПНП, ммоль/л	ЛПВП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л
-572 G>C гена <i>IL6</i>	контроль	GG	5,91± 0,52	4,03± 0,52	1,45± 0,08	1,38± 0,17
		GC+CC	6,26± 0,73	4,21± 0,70	1,58± 0,17	1,38± 0,11
	ЭАГ	GG	6,7± 0,36	4,52± 0,29	1,26± 0,06	1,9± 0,14
		GC+CC	9,18± 0,78*	6,58± 0,92*	1,16± 0,15	2,92± 0,84
-308 G>A гена <i>TNF</i>	контроль	GG	6,67± 0,39	4,69± 0,37	1,43± 0,07	1,42± 0,18
		GA+AA	6,67± 0,51	4,17± 0,34	1,35± 0,11	1,90± 0,40
	ЭАГ	GG	6,32± 0,26	4,13± 0,21	1,29± 0,04	1,73± 0,11
		GA+AA	6,85± 0,59	4,65± 0,50	1,07± 0,08*	1,75± 0,22

**Примечание:** \* - достоверное отличие по сравнению с носителями генотипа GG в той же группе ( $p < 0,05$ )

Результаты исследования свидетельствуют о наличии генетической предрасположенности доноров, имеющих С аллель по -572G>C полиморфному маркеру гена *IL6* и А аллель по -308G>А полиморфному маркеру гена *TNF*, к изменению состава липидов плазмы крови в сторону повышения содержания атерогенных и снижения антиатерогенных фракций липидов.

**Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН на 2012-2014 гг. «Фундаментальные науки - медицине», № г.р. 01201262105; Гранта Правительства РФ по постановлению №220, ГК № 11.G34.31.0052 (вед. ученый А.Н. Полторац).**

## Литература

1. Bautista L.E., Vera L.M., Arenas I.A., Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- $\alpha$ ) and essential hypertension // J. Hum. Hypert. 2005. V. 19. P. 149-154.
2. Fernández-Real J.M., Broch M., Vendrell J., et al. Interleukin 6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects // J. Clin. Endocrinol.

- Metab. 2000. V. 85. P. 1334-1339.
3. Ito H., Ohshima A., Tsuzuki M., Ohto N., Takao K., Hijii C., Yanagawa M., Ogasawara M., Nishioka K. Association of serum tumour necrosis factor- $\alpha$  with serum low-density lipoprotein-cholesterol and blood pressure in apparently healthy japanese women // Cl. Exp. Pharm. Phys. 2001. V. 28. P. 188-192.
  4. Wilson A. G., Symons J. A., Grall F. et al. Effect of a polymorphisms in the human tumor necrosis factor  $\alpha$  on transcriptional activation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 3195-3199.
  5. Ito M., Takahashi H., Fuse K., Hirono S., Washizuka T., Kato K., Yamazaki F., Inano K., Furukawa T., Komada M., Aizawa Y. Polymorphisms of tumor necrosis factor-  $\alpha$  and interleukin-10 genes in japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy // Jpn. Heart J. 2000. V. 41. P. 183-191.
  6. Timasheva Y. R., Nasibullin T. R., Zakirova A. N., Mustafina O. E. Association of Interleukin-6, Interleukin-12, and Interleukin-10 Gene Polymorphisms with Essential Hypertension in Tatars from Russia // Biochem. Genet. 2008. V. 46. P. 64-74.
  7. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge // Clinical Chemistry. 1972. V. 18. №16. P. 499-502.

---

## **АКТИВНОСТЬ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФОРМ МАО В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И ПЕЧЕНИ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ В УСЛОВИЯХ АНТЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ**

Мешкова Е.М., Томилова И.К., Кислякова Т.В.

ГБОУ ВПО Ивановская государственная медицинская академия  
Минздрава России кафедра биохимии,  
НИЦ ГБОУ ВПО Ивановская государственная медицинская академия  
Минздрава России

546351805a5bd

Формирование центральной нервной системы (ЦНС), становление и функционирование высшей нервной деятельности в процессе роста ребенка во многом обеспечивается работой катехоламинергических нейротрансмиттеров (6). В настоящее время основным фактором, вызывающим дисбаланс в работе данной нейромедиаторной системы, считают антенатальную гипоксию, возникающую вследствие нарушения маточно-плацентарного кровообращения (МПК). Ранее нами было показано, что недостаток кислорода в головном мозге и печени плодов и новорожденных крысят вызывает повышение активности моноаминоксидазы (MAO), дезаминирующей биогенные амины (3). Однако в клетке одновременно функционируют митохондриальная и цитоплазматическая формы фермента, отличающиеся друг от друга рядом свойств (4), что некоторыми авторами рассматривается как механизм поддержания гомеостаза при патологии (6). Увеличение активности растворимой фракции MAO за счет понижения образования мембрансвязанных форм сопровождается некоторыми патологическими процессами (4).

**Цель исследования:** определение активности цитоплазматической и митохондриальной форм MAO в головном мозге и печени плодов и новорожденных крысят, развивающихся в условиях нарушенного маточно-плацентарного кровообращения.

### **Материалы и методы.**

Экспериментальная модель нарушения маточно-плацентарного кровообращения была воспроизведена на белых беспородных беременных крысах по методике М.М.Варгановой (1). Плоды и новорожденные крысята были разделены на 2 группы. В первую группу

включались плоды (21 день гестации) и новорожденные животные (на 2-е сутки после рождения), развивавшие в условиях нарушения маточно-плацентарного кровообращения (опытная группа). Вторая группа состояла из плодов (21 день гестации) и новорожденных крысят (на 2-е сутки после рождения), развивавшихся без нарушения маточно-плацентарного кровообращения (контрольная группа).

Выделение субклеточных структур из гомогенатов головного мозга и печени крыс проводили при дифференциальном центрифугировании гомогената в изотоническом растворе сахарозы при pH 7,4. Лёгкие и тяжелые митохондрии осаждали при 18000 g в течение 20 мин, микросомы и цитозоль разделяли при 105000 g в течение 2-х часов (5).

Оценка активности MAO проводилась в гомогенатах головного мозга и печени плодов и новорожденных крысят по модифицированному спектрофотометрическому методу с бензиламином в качестве субстрата (2).

Статистическая обработка была проведена по общепринятым методикам параметрической и вариационной статистики. Достоверность различий рассчитывалась по критерию Стьюдента.

### Результаты.

Результаты исследования показали, что в головном мозге нарушение МПК вызвало достоверное увеличение дезаминирующей способности митохондриальной MAO у плодов и повышение активности обеих форм фермента у новорожденных крысят. При этом и в опытной и контрольной группах плодов и новорожденных преобладающей является митохондриальная фракция MAO (Табл. 1).

Таблица 1. Активность MAO (нмоль бензальдегида/1 мг белка/мин) у плодов крысят

головной мозг				печень			
цитоплазма		митохондрии		цитоплазма		митохондрии	
О (n=8)	К (n=6)	О (n=8)	К (n=6)	О (n=8)	К (n=6)	О (n=8)	К (n=6)
0.029 ±0.043	0.044 ±0.011	0.094 ±0.028	0.047 ±0.081	0.035 ±0.004	0.057 ±0.0036	0.116 ±0.011	0.069 ±0.0079
стат. не знач.		p≤0.05		p≤0.05		p≤0.01	

В условиях антенатальной гипоксии в печени плодов произошло увеличение активности митохондриальной MAO с одновременным понижением дезаминирующей способности цитоплазматической формы, а у опытных новорожденных наоборот наблюдалось повышение активности цитоплазматической фракции энзима по сравнению с

митохондриальной фракцией (Табл. 2).

Таблица 2. Активность MAO (нмоль бензальдегида/1 мг белка/мин) в головном мозге и печени новорожденных крысят

головной мозг				печень			
цитоплазма		митохондрии		цитоплазма		митохондрии	
О (n=8)	К (n=8)	О (n=8)	К (n=8)	О (n=8)	К (n=8)	О (n=8)	К (n=8)
0.026 ±0.041	0.042 ±0.0071	0.089 ±0.024	0.056 ±0.011	0.067 ±0.0074	0.042 ±0.008	0.028 ±0.0023	0.055 ±0.0043
p≤0.01		p≤0.05		p≤0.05		p≤0.05	

### Выводы:

Выявлено, что антенатальная гипоксия неодинаково влияет на активность митохондриальной и цитоплазматической форм MAO в головном мозге и печени плодов и новорожденных крысят.

Повышение активности митохондриальной фракции фермента при хронической гипоксии происходит, по-видимому, вследствие увеличения числа митохондрий и количества крист в них и соответствующего роста числа и активности ферментных систем, локализирующихся на их мембране (8), в том числе и MAO. Увеличение дезаминазной способности цитоплазматической фракции MAO является закономерным процессом, если учесть, что внедрение этого синтезированного на свободных полисомах энзима в мембрану митохондрий является энергозависимым процессом (9), а недостаток кислорода приводит к снижению образования АТФ.

Полученные результаты можно рассматривать, как механизм адаптации к гипоксии, т.к. увеличение активности MAO является косвенным показателем интенсификации обмена биогенных аминов, реализующих стресс-компенсаторные реакции организма. Сравнительный анализ активности митохондриальной и цитоплазматической форм MAO в головном мозге и печени указывают на более тяжелую кислородную недостаточность в гепатоцитах по сравнению с нервной тканью.

### Литература

1. Вартанова М.М. Патогенез и профилактика синдрома отставания в развитии плода при плацентарной недостаточности и его отдаленные последствия. Дисс. на соиск. учен. степ. докт. мед. наук. - Л. 1984. - С. 462.
2. Волчегорский И. А. , Скобелева Н. А., Лифшиц Р.И. Вопросы медицинской

- химии 1991,Т.37, С.86-89.
3. Мешкова Е.М., Томилова И.К., Кислякова Т.В. IV Международная научная Интернет-конференция: материалы конф. 2013, Т. 1, 177 с.
  4. Москвитина Т.А. Биомедицинская химия, 2006, том 52, вып. 2, с. 169-173.
  5. Москвитина Т.А., Медведев А.Е. Вопросы медицинской химии 2000, Т.46, 48-51.
  6. Отеллин В.А. Природа, 2003, №9, С.
  7. Naessens M., Vandamme E.J. Biotechnol. Lett., 2003. V. 25, P. 1119-1124.
  8. Sobol H., Cohen P.M. Proc.Soc.Exp.biol., New York, 1958, V. 99, P. 656.
  9. Zhuang Z., McCauley R. () J. Biol. Chem., 1989, V.264, P. 14594-14596.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА КСИМЕДОН НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЛАНАРИЙ *DUGESIA TIGRINA*

Миронов Н.Н., Порфирьев А.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

545e066ad6eed

В настоящей работе проведено исследование пролиферативная активности лекарственного препарата «Ксимедон» на процесс регенерации планарий *D. tigrina*. В литературе имеются обширные данные о регенераторных свойствах ксимедона и его клинических исследованиях (Абдулхаков, 1986; Измайлов, 1996). Выбор объектов исследования связан с тем, что работы по исследованию влияния ксимедона на регенерацию планарий ранее не проводились.

Лабораторная культура планарий *D. tigrina* является достаточно популярным модельным объектом в различных биологических исследований (Демцун Н.А., 2008; Chandebois R., 1976; Hori I., 2006; Pionteck M., 1999). Регенерация планарий происходит методом отрастания регенерационной почки бластемы, которая формируется за счет пролиферации резервных клеток - необластов (Тирас, 1984). Регистрацию отрастания бластемы проводили через 72 часа после декапитации и помещения в раствор препарата.

Вычисленная в процессе эксперимента летальная доза ксимедона для планарий составляет 2000 мг/1 л. Определение рабочих концентраций нами было выбрано ниже значений средней летальной концентрации. В работе использовались концентрации в 12 мг/1 л; 5 мг/1 л; 2 мг/1 л. При самой высокой выбранной концентрации в 12 мг/1 л препарат «Ксимедон» проявляет себя, как стимулятор пролиферативной активности у планарий *D. tigrina*. Более низкие концентрации препарата не оказывают существенного влияния на морфогенез и степень отрастания регенерационной почки - бластемы. Концентрации при которых ксимедон действовал бы, как ингибитор регенерации в процессе исследования на данный момент нами не обнаружены.

### Литература

1. Абдулхаков Р.А. Влияние ксимедона на некоторые показатели клеточного иммунитета при ожоговой болезни. В сб. Ксимедон.

- Казань 1986; 108-110.
2. Измайлов С.Г. Антимикробное действие ксимедона. В сб. Фармакология и токсикология фосфоорганических и биологически активных веществ. Казань 1996; 73.
  3. Демцун Н.А., Махонина М. М., Темуриянц Н. А., Мартынюк В. С. Влияние электромагнитного экранирования различной продолжительности на регенерацию планарий *Dugesia tigrina*. Журнал «Физика живого». Т. 16, №1, 2008. С.68-73.
  4. Тирас Х.П, Сахарова Н.Ю. Прижизненная морфометрия планарий // Онтогенез. - 1984. -- Т 15, №1. - С. 42-48.
  5. Chandebouis R. Histogenesis and morphogenesis in planarian regeneration. Basel: Karper. 1976. 182 p.
  6. Hori I. Effects of retinoic acid on regeneration of the planarian *Dugesia japonica* / 10th International Symposium on Flatworm Biology ISFB. 2006. 29 July 3 August. Innsbruck, Austria. P. 56.
  7. Pionteck M. Use of a planarian *Dugesia tigrina* Girard in the studies of acute intoxication // Pol. arch. Hydrobiol. 1999 a. Vol. 46. № 1. P. 41-48.

## ОСОБЕННОСТИ ЭВОЛЮЦИИ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА

Осипова Е.В., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н.

КИББ КазНЦ РАН

546490359357a

Липоксигеназный сигнальный каскад является одним из важнейших для большинства живых организмов. Так липоксигеназа (ЛОГ)-ключевой фермент липоксигеназного пути - встречается в организмах животных, растений, водорослей и бактерий. ЛОГ катализирует превращение жирной кислоты, содержащей 1,4-*cis,cis*-пентадиеновую систему в соответствующую гидроперекись по ( $n-2$ ) или ( $n+2$ ) типу, где  $n$ -центральный атом углерода пентадиеновой системы. Полученные гидроперекиси жирных кислот преобразуются ферментами семейства CYP74 цитохромов P450, липоксигеназами или другими ферментами до соединений, имеющих сигнальные, антимикробные и другие функции.

В данной работе реконструирована история эволюции ферментов липоксигеназной системы (ЛОГ и цитохромов P450) с учетом их каталитической специфичности и имеющих в составе липида жирных кислот. Специфичность действия ЛОГ и цитохромов P450 растений определяется в первую очередь первичной структурой ферментов. Монофилетическое происхождение показано для ( $n-2$ )-липоксигеназ и ( $n+2$ )-липоксигеназ растений, ферментов семейства CYP74 растений. Исключением является липоксигеназы и ферменты семейства CYP74 бобовых, последовательности которых схожи между собой больше, чем с последовательностями этих семейств у других организмов.

Предковыми ферментами липоксигеназной системы растений являются именно ( $n+2$ )-специфичные липоксигеназы и ( $n+2$ )- ферменты семейства CYP74, а именно алленоксидсинтазы и гидропероксидлиазы. Появление ( $n-2$ )-специфичных ферментов липоксигеназного каскада является эволюционно более поздним событием.

В ходе эволюции липоксигеназы и послужившие каталитическими аналогами CYP74 растений каталазы, встречаются у грибов и цианобактерий в виде двух доменов единого фермента, а затем наблюдается дивергенция этих доменов до отдельных ферментов у растений, с потерей ферментов семейства CYP74 у млекопитающих.

Липоксигеназная сигнальная система млекопитающих претерпела значительные изменения. Функции растительных ферментов СYP74 у млекопитающих выполняют атипичные 5(S)-липоксигеназа и атипичная липоксигеназа 3, являющаяся гидропероксидизомеразой 5(S)- и 12(R)-гидроперекисей арахидоновой кислоты и другие ферменты. Среди всех цитохромов P450 наиболее схожи аминокислотные последовательности ферментов семейств СYP74 растений и СYP7 млекопитающих.

Полученные данные вносят вклад в понимание молекулярной эволюции ферментов липоксигеназного каскада.

***Работа поддержана грантом МК-1916.2014.4 Президента РФ для молодых кандидатов наук.***

---

## ЭЛЕКТРОАКУСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИОФАГА M13K07 С КРОЛИЧЬИМИ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ

Павлий С.А.\*, Гулий О.И.\*\*\*, Зайцев Б.Д.\*\*\*, Кузнецова И.Е.\*\*\*,  
Шихабудинов А.М.\*\*\*, Теплых А.А.\*\*\*, Караваева О.А.\*\*\*, Фомин А.С.\*\*\*,  
Староверов С.А.\*\*\*, Дыкман Л.А.\*\*\*, Игнатов О.В.\*\*\*

\*ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г.  
Чернышевского»,

\*\*ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов  
РАН, 410049 г. Саратов,

\*\*\*ФГБУН Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова  
РАН, Саратовский филиал, 410019 г. Саратов

544115d7b2e02

**Введение.** В последние годы активно развиваются исследования в области разработки новых методов детекции вирусов бактерий для получения результата в короткое время. Для идентификации вирусов используют различные подходы, такие как микробиологические и биохимические тесты, методы геномной инженерии и иммунологические методы [1]. Актуальной задачей является разработка новых экспресс-методов детекции бактериофагов, позволяющих получать точные результаты за короткое время. Одним из перспективных методов развития данного направления является применение электроакустического анализа, основанного на регистрации биоспецифических реакций в жидкой суспензии, контактирующей с поверхностью пьезоэлектрика [2]. Пьезоэлектрические резонаторы с поперечным электрическим полем представляют интерес для исследования свойств различных жидкостей, включая и биологические, которые в отличие от традиционных резонаторов с продольным полем более чувствительны к контактирующей жидкости, поскольку реагируют на изменение как ее вязкости, так и проводимости. Целью работы являлось изучение возможности использования метода электроакустического анализа для детекции бактериофагов на примере бактериофага M13K07 и кроличьих поликлональных антител.

**Методы исследования.** В работе использовали микроорганизмы *Escherichia coli* XL-1, полученные из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН.

В работе использовался M13K07 – нитчатый фаг семейства *Inoviridae*. M13 K07 коммерческий препарат фирмы Stratagene (Швеция), имеющий устойчивость к канамицину, был сконструирован на основе дикого типа фага M13 [3].

Антифаговые антитела к бактериофагу M13K07 получены от иммунизированных кроликов, как описано [4].

Все эксперименты по изучению изменений механических и электрических свойств суспензий бактериофагов при биоспецифическом взаимодействии фагов с антителами проводились с помощью специально изготовленного датчика, включающего пьезоэлектрический резонатор с поперечным электрическим полем и жидкостную ячейку [2]

### **Результаты и их обсуждение**

Иммунологические методы, основанные на определении вирусных антигенов, относятся к наиболее распространенным методам определения бактериофагов и вирусов. Серологическая диагностика позволяет идентифицировать вирус даже в том случае, когда выделение вирусных частиц из образца не дало никаких результатов. Мы исследовали возможность использования антител, специфичных к бактериофагу M13K07, для детекции бактериофагов с помощью электроакустического метода.

Бактериофаг M13 – это специфический к *E. coli* нитчатый фаг. Нитчатые бактериофаги – длинные тонкие бактериальные вирусы, которые заражают мужские клетки *E. coli* без лизиса клеток [5;6]. Нитчатый бактериофаг M13 класса I включает кольцевую одноцепочечную ДНК, заключённую в цилиндрическую белковую оболочку длиной около 890 нм и около 7 нм диаметром. Проводились измерения частотных зависимостей реальной и мнимой частей электрического импеданса, когда в жидкостной ячейке находятся бактериофаги M13K07 без добавления антител, специфичных к бактериофагу M13K07. Вначале в жидкостную ячейку вносили суспензию чистых бактериофагов ( $10^{10}$  фагов/мл) и проводили измерение реальной и мнимой частей электрического импеданса датчика с помощью измерителя LCR параметров в диапазоне 6-7 МГц. Затем добавляли специфические антитела из расчета 2 мкг/мл, и измерения сразу же повторялись. Указанная концентрация антител была выбрана на основании предварительных экспериментов, в которых было установлено, что максимальное изменение резонансной частоты наблюдается при внесении в суспензию бактериофагов специфических антител именно из расчета 2 мкг/мл. Значения резонансной частоты, а также значения реальной и мнимой частей импеданса в указанном выше

частотном диапазоне сильно отличаются для суспензий клеток с антителами и без них. Следует отметить, что в ходе измерений не было замечено изменений импеданса резонатора во времени, т.е. скорость изменения импеданса была существенно меньше времени измерений, которое составляло ~10 мин. Таким образом, можно сказать, что указанные измерения фиксировали конечное состояние суспензии, поскольку повторные эксперименты приводили к тем же самым результатам. Полученные результаты демонстрируют возможность регистрации взаимодействия вирусов со специфическими антителами с помощью пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем.

Представленные результаты показывают возможность создания биологического акустического датчика не только для качественного, но и количественного анализа бактериофагов. Показано, что биологический датчик на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем позволяет осуществлять детекцию бактериофагов непосредственно в жидкой фазе при взаимодействии со специфическими антителами без их иммобилизации на поверхности пьезоэлектрика. Этот подход принципиально отличается от известных способов определения бактериофагов при помощи акустических резонаторов с использованием иммобилизованных антител [7; 8; 9] простотой выполнения процедуры анализа, высокой чувствительностью и быстротой получения результата. Кроме того, описанный метод позволяет многократное проведение анализа в отличие от вышеупомянутого традиционного подхода, который нуждается после каждого цикла измерений в замене активной пленки иммобилизованных антител.

## Литература

1. Yousef A.E. Detection of bacterial pathogens in different matrices: current practices and challenges / In: Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems. ew York: Springer, 2008. P. 31-48.
2. Зайцев Б.Д., Кузнецова И.Е., Шихабудинов А.М., Васильев А.А.//Письма в Журнал технической физики. 2011. Т. 37. С. 27-33.
3. Sambrook., E.F. Fritsch, T. Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Second ed. N.Y.: Cold Spring. Mavbov Lab. Press, 1989.
4. Пристенский Д.В., Староверов С.А., Ермилов Д.Н., Щёголев С.Ю., Дыкман Л.А.//Биомедицинская химия. 2007. Т. 53. С. 57-64.
5. Marvin D.A., Hale R.D., Nave C., Helmer-Citterich M. // J. Mol. Biol. 1994. V.

235. P. 260-286.
6. Overman S.A., Tsuboi M., Thomas G.J. // J. Mol. Biol. 1996. V. 259. P. 331-336.
  7. Koenig B. Graetzel M. // Anal. Chem. 1994. V. 66. P. 341-348.
  8. Tamarin O., Comeau S., Déjous C., Moynet D., Rebière D., Bezian J., Pistréa J. // Biosens. Bioelectron. 2003. V. 18. P. 755-763.
  9. Bisoffi M., Hjelle B., Brown D.C., Branch D.W., Edwards T.L., Brozik S.M., Bondu-Hawkins V.S., Larson R.S. // Biosens. Bioelectron. 2008. V. 23. P. 1397-1403.

---

## **НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ AU НАНОСТЕРЖНЕЙ И ГЕМАТОПОРФИРИНА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ И ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ *IN VIVO***

Панфилова Е.В.<sup>1</sup>, Терентюк Г.С.<sup>2</sup>, Ханадеев В.А.<sup>1</sup>, Чумаков Д.С.<sup>2</sup>, Генина Э.А.<sup>2</sup>, Башкатов А.Н.<sup>2</sup>, Тучин В.В.<sup>2</sup>, Бучарская А.Б.<sup>3</sup>, Маслякова Г.Н.<sup>3</sup>, Хлебцов Н.Г.<sup>3</sup>, Хлебцов Б.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ИБФРМ РАН,

<sup>2</sup> СГУ им. Н.Г. Чернышевского,

<sup>3</sup> СГМУ им. Разумовского

545b2bcb700ef

Наноконпозиты (НК), состоящие из Au наностержней, покрытых мезопористой оболочкой SiO<sub>2</sub>, допированной гематопорфирином (ГП), были синтезированы для повышения эффективности лечения рака путем комбинирования фототермической и фотодинамической терапии (ФТТ+ФДТ) *in vivo*. Помимо плазмонного резонанса вблизи 810-830 нм, полученные НК обладают пиком поглощения вблизи 400 нм, за счет поглощения ГП, продуцирующего синглетный кислород при облучении светом с длиной волны 633 нм, и эффективно нагреваются при воздействии лазера с длиной волны 808 нм. Эти свойства НК были использованы для ФТТ+ФДТ-воздействия на крупные привитые опухоли крыс *in vivo*. НК вводились непосредственно в опухоль и подвергались одновременному воздействию лазеров с длиной волны 633 нм и 808 нм для стимулирования фотодинамической и фототермической активности. Эффективность комбинированной терапии оценивалась с помощью ОКТ, гистологических исследований и измерениями роста опухоли в течение 21 дневного периода. ФДТ с помощью НК привела к слабым изменениям в гистологии ткани и снижению на 20% объема опухоли. Комбинированное же ФДТ+ФТТ-лечение привело к масштабному некрозу ткани опухоли и значительному снижению её объема.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОСТАВА ЖЕВАТЕЛЬНОЙ РЕЗИНКИ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ СЛЮНЫ**

Рыжкова Д.А., Гришина О.В., Гарусова Е.В.

ГБОУ ВПО Ивановская медицинская академия Минздрава РФ

546112e5dc95b

В современном обществе достаточно широко распространено использование жевательной резинки (ЖР) с целью снижения риска развития кариеса. Результаты предыдущих наших исследований подтвердили, что использование ЖР Orbit способствует нормализации рН слюны, однако приводит к значительным изменениям её минерального гомеостаза. Анализ данных по составу ЖР показал, что различные виды и марки её существенно отличаются не только используемыми подсластителями, разрыхлителями и ароматизаторами, но и в качестве таковых содержат вещества, изменяющие рН и минеральный состав слюны (ацесульфам калия, гидрокарбонат натрия, изомальт, карбонат кальция, фосфат кальция).

**Целью** нашей работы явилось изучение влияния состава жевательной резинки на минеральный гомеостаз слюны. В ходе исследования решались следующие задачи: определить рН и концентрации ионов кальция, магния и фосфора в слюне натощак; через 5, 10 и 30 минут после приёма сладкой воды без использования ЖР; через 10 и 30 минут после приёма сладкой воды с использованием ЖР в течение рекомендованных производителями 5 минут; оценить влияние состава ЖР на степень изменения показателей слюны. Выбор данного спектра ионов обусловлен их ролью в процессе реминерализации эмали и в работе буферных систем слюны, выбор ЖР Orbit и Dirol - популярностью у студентов нашего вуза (рис.1) и различиями в химическом составе. Объектом исследования явились 80 проб слюны, отобранной у студентов, не имеющих жалоб стоматологического профиля. Измерение рН проводилось потенциометрическим методом, количественное определение содержания кальция, фосфора и магния - с использованием диагностических наборов спектрофотометрическим методом.

В результате исследования выявлено, что после употребления сладкой воды рН слюны смещается в кислую сторону, но к 10 минуте возвращается к исходному уровню и без использования ЖР.

Использование ЖР Dirol, содержащей в составе изомальт, способствующий, по данным литературы, повышению саливации, приводит на 10 минуте к превышению исходного уровня pH ( $p < 0,05$ ). Для ЖР Orbit характерно более медленное изменение данного показателя, что возможно обусловлено наличием в её составе гидрокарбоната натрия, являющегося донором  $\text{HCO}_3^-$  - компонента естественной буферной системы. Возможно, существенную роль в повышении pH слюны при использовании обеих ЖР играет ацесульфам К, способный связывать кислые продукты.

Также при использовании обеих ЖР наблюдается резкое достоверное увеличение количества свободного кальция в обменном пуле слюны (от 0,24 до 0,42-0,8 Ммоль/л) и достаточно быстрое возвращение к исходному уровню (3 Ммоль/л) концентрации ионизированного фосфата ( $p < 0,05$  по отношению к контролю). При использовании ЖР Dirol данные эффекты выражены значительно сильнее, что возможно обусловлено входящими в её состав фосфатом кальция и карбонатом кальция, формирующим ядра новых мицелл и способных акцептировать на себя новые порции неорганических ионов. Повышение в составе слюны двух минерализующих ионов должно способствовать поддержанию нормального состояния эмали зуба. По литературным данным, оптимальные реминерализующие функции слюны проявляются при соотношении Са и фосфора как 1:4. Определив данное соотношение в нашем случае, мы выяснили, что использование ЖР не приводит к установлению идеального баланса указанных ионов (рис.3).

Использование обеих ЖР препятствует уменьшению содержания  $\text{Mg}^{2+}$ , вызванного приёмом сладкой воды ( $p < 0,05$  по отношению к контролю). (рис.2). Для ЖР Dirol данный эффект выражен сильнее. Известно, что магний является активатором иммобилизованной щелочной фосфатазы, располагающейся на границе «эмаль-слюна» и обуславливающей оптимальное протекание реминерализации. Её активность может провоцировать высокую интенсивность минерализации поверхности эмали со снижением её центростремительной проницаемости по отношению к слюне. Компонент, содержащий магний, в составе ЖР нами не установлен.

Таким образом, применение ЖР приводит к изменению минерального состава слюны за счёт реализации различных механизмов поддержания гомеостаза в зависимости от компонентов ЖР. Среди них стимуляция слюноотделения, внесение компонента буферной системы и внесение веществ, способствующих формированию мицелл и изменения их свойств.

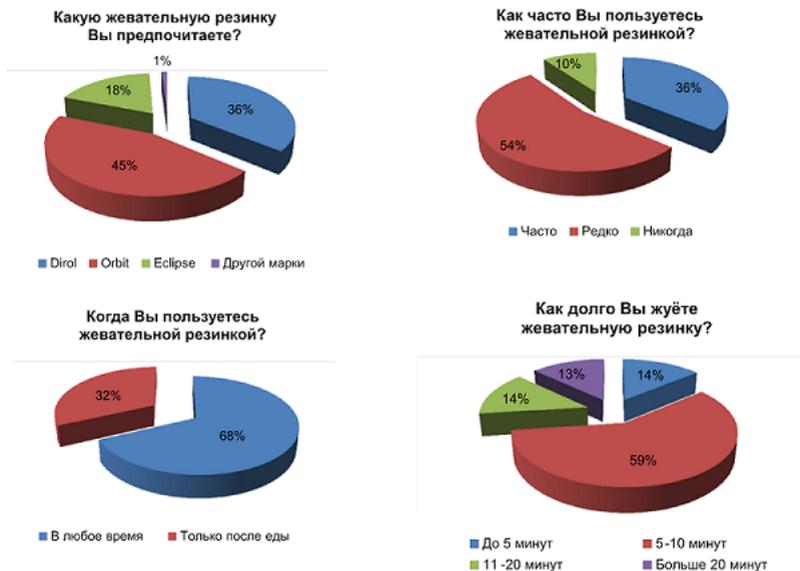


Рис. 1. Результаты опроса студентов-второкурсников ГБОУ ВПО ИвГМА Минздрава РФ (n=45).

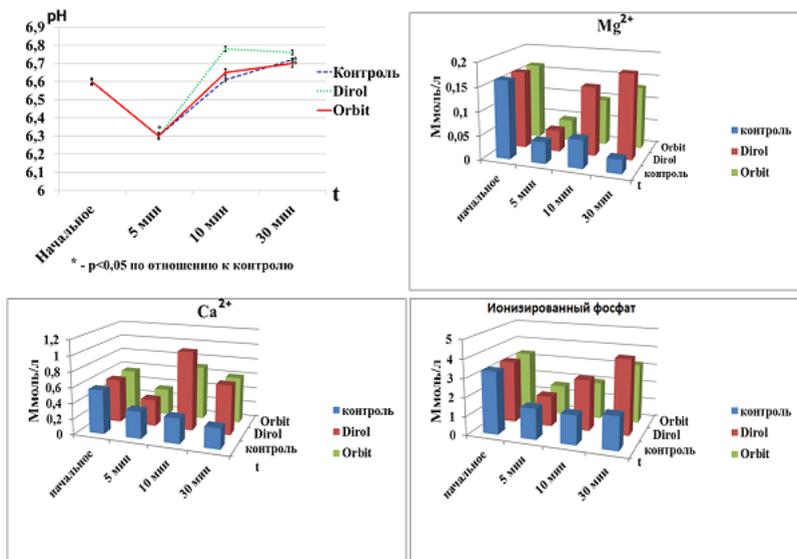


Рис. 2. Изменения значения pH, содержания ионов магния, кальция и фосфата в составе слюны.

	<b>Контроль</b>	<b>Dirol</b>	<b>Orbit</b>
<b>оптимальное</b>	<b>1:4</b>		
<b>до сладкой воды</b>	<b>1 : 3,9</b>		
<b>через 5 мин</b>	<b>1 : 4,7</b>		
<b>через 10 мин</b>	<b>1 : 4,6</b>	<b>1 : 2,7</b>	<b>1 : 2,9</b>
<b>через 30 мин</b>	<b>1 : 6,7</b>	<b>1 : 6,3</b>	<b>1 : 5</b>

Рис. 3. Соотношение Са/Р в слюне.

### **Литература**

1. Зырянов Б.Н. Модификация метода забора ротовой жидкости/Удостоверение на рационализаторское предложение №250 от 04.06.2003 г. - БРИЗ ОГМА. - 1с.

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА МАОА НА АНТИСОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ

Семенова Е.А., Фаттахова А.Н.

КФУ

543f919f15c4e

**Актуальность:** генетическая предрасположенность к психическим расстройствам связана с множеством генов. Одним из генов-кандидатов является моноаминоксидаза А (МАОА), замешанная в нескольких расстройствах ЦНС, злоупотреблением наркотиками, агрессии, антиобщественном поведении, тревоге, синдроме дефиците внимания и гиперактивности, биполярном расстройстве [Li F., 2004; Tadic A., 2003]. Полиморфизмы МАОА установлены в случае синдрома Брюннера, при замедленном умственном развитии, шизофрении, а ингибиторы этого фермента широко используются для лечения психической депрессии, тревожных расстройств. Известно 12 опубликованных полиморфизмов гена МАО А, которые определяют индивидуальные различия по целому ряду признаков, связанных с патологией, а также индивидуальные различия по психологическим признакам, варьирующим в пределах нормы [Balciuniene J., 2001].

В связи с этим, целью данного исследования являлось выявление роли полиморфных маркеров гена МАОА (rs113707, rs1803986, rs6323) в формировании антисоциального поведения.

### **Выводы:**

1. В группе лиц с криминальным поведением выявлено носительство 3 низких фенотипов МАО А: 0 ед (n=17), 0-0,2 ед (n=39), 0,2-8 ед (n=44);
2. Анализ ассоциации полиморфных локусов (rs113707, rs1803986, rs6323) гена МАОА у лиц криминальным поведением не выявил статистически значимых отличий.
3. Анализ частот распределения гаплотипов (rs63235, rs113707) выявил, что генотип G/T встречается достоверно чаще в группе контроля, чем в опытной группе.

## **Литература**

1. Balciuniene, J. Genetic Studies of Two Inherited Human Phenotypes: Hearing Loss and Monoamine Oxidase Activity. [Text] / J. Balciuniene // - Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine. - 2001.
2. Li, F. Association between the functional monoamine oxidase A gene polymorphism and aggressively driving behavior. [Text] / Li F., Li C., Long Y., Zhan C., Yao W., Tang H. and Jin H. // Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. - 2004 - № 38. - С. 321-323.
3. Tadic, A. Association of a MAOA gene variant with generalized anxiety disorder, but not with panic disorder or major depression. [Text] / Tadic A., Rujescu D., Szegedi A., Giegling I., Singer P., Moller H. and Dahmen N. // J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. - 2003. - 117B: 1-6.

## **ИНОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРОДУКТА НА СОКРАЩЕНИЕ МИОКАРДА. СРАВНЕНИЕ С ЭФФЕКТАМИ ДИАЗОКСИДА**

Соболь К.В., Коротков С.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт  
эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской  
академии наук, Санкт-Петербург

545cdcb1bdd07

Изучали инотропное действие нового пробиотического продукта (ПП) на сокращение миокарда лягушки *Rana ridibunda*. Помимо этого, изучали влияние ПП на изменение объема митохондрий с помощью регистрации оптической плотности их суспензии. В обоих случаях производили сравнение с известным кардиопротектором диазоксидам. Показали, что ПП и диазоксид оказывали двойственный эффект на максимальное усилие, развиваемое мышечным образцом, во время спонтанных сокращений предсердий. При добавлении препаратов наблюдали отрицательный, а при отмывании - положительный инотропный эффект. При отмывании ПП амплитуда сокращений возрастает и остается повышенной после удаления ПП из раствора в течение достаточно длительного времени (не менее 2-х часов). Не исключено, что ПП запускает внутриклеточные сигнальные каскады, которые могут увеличивать возбудимость пейсмекерных клеток. При этом ПП практически не влиял на амплитуду сокращения, вызванного электрической стимуляцией фрагментов желудочка сердца. ПП снижает как пассивную протонную проницаемость внутренней мембраны митохондрий (ВММ), так и энергозависимый транспорт  $K^+$  в митохондрии, обусловленный активацией  $K^+$ -унипортера кардиомиоцитов. Механизм кардиопротекции ПП на уровне митохондрий может отличаться от эффектов диазоксида.

## БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЛИШАЙНИКОВ

Степанова А.В.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова

544de25d520df

Лишайники рода *Cladonia* - лекарственное сырье, используемое в народной медицине для лечения многих заболеваний. В слоевищах лишайников содержатся биологически активные вещества (БАВ) различных групп: углеводы (70-80%) в виде лишайникового крахмала лихенина [1]; дубильные вещества (1-2%); лишайниковые кислоты (2-3%); микроэлементы. Содержание в слоевище лишайников БАВ обуславливает довольно широкое их использование в официальной и народной медицине для лечения болезней желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, инфекционных заболеваний кожи, эндокринных нарушений, также применение их в качестве иммуномодулирующих, противоопухолевых, гепатопротекторных и детоксикационных препаратов [2-4].

В связи с тем что лишайниковые вещества обладают широким спектром лекарственных свойств, включая противомикробные, противомикотические, противовирусные, противовоспалительные, обезболивающие, жаропонижающие, антипролиферативные и цитотоксические, их терапевтический потенциал еще недостаточно изучен, что сдерживает широкое производство на их основе фармацевтических препаратов и применение в медицине целью данной работы является определение некоторых биологически активных веществ в лишайниках для оценки качества как лекарственного растительного сырья.

**Объектом исследования** служили лишайники рода *Cladonia*, произрастающие в Центральной Якутии. Предварительно был составлен список определяемых соединений для оценки содержания физиологически активных компонентов: арбутин, галловая кислота, коричная кислота, хлорогеновая кислота, кверцетин, рутин, урсоловая кислота, байкалин, байкалеин, кемпферол, лютеолин, скутелларин, дельфинидин, апигенин, изорамнетин, гиперозид. Среди этих веществ имеются флавоноиды, органические кислоты, полифенольные соединения и т.п.

### Методы исследования.

Для каждого из перечисленных соединений была проведена оптимизация условий масс-спектрометрического определения для режима тандемного масс-детектирования в режиме регистрации отрицательных ионов. Были подобраны ионные переходы, потенциал декластеризации и энергия соударений в камере столкновений. Также получены спектры хроматограмм в УФ диапазоне (230 – 400 нм).

В качестве неподвижной фазы при анализе проб использовали колонку с обращено-фазовым сорбентом AcclaimRSLC, длиной 150 мм, внутренним диаметром 2.1 мм, размером зерна сорбента 3 мкм, фирмы «Thermo». При хроматографическом разделении использовали программу градиентного элюирования (табл. 1).

Таблица 1. Условия хроматографического разделения определяемых веществ (элюент А - 0.5 % раствор муравьиной кислоты в воде, элюент Б - ацетонитрил)

Объем вводимой пробы	0.020 мл;
Температура термостата колонки	25 °С;
Скорость подачи элюента	0.400 мл/мин;
Начальный состав подвижной фазы программа элюирования	0.00 – 3.00 мин. 5 % элюента Б; 3.01 – 10.00 мин. 5 – 90 % Б; 10.01 – 14.00 мин. 90 % Б; 14.01 – 15.00 мин. 90 –5%Б 15.01 – 22.00 мин. 5 % Б.

Пробоподготовка заключалась в приготовлении трех различных экстрактов тремя растворителями - метиловым спиртом, этилацетатом и дихлорметаном. Полученные экстракты высушивали в вакуумном роторном испарителе и снова растворяли в 2 мл метилового спирта. Затем экстракты отфильтровали, разбавляя в 10 раз водой.

Кроме того, определяли летучие компоненты исследуемого образца методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

В работе использовали газовый хроматомасс-спектрометр GCMS-2010 Ultra фирмы Shimadzu (Япония). Разделение проводили на колонке ZB-5 MS 30м × 0,25 мм, с использованием градиентного режима нагрева: 0-2 мин - 40°С, 2-28 мин 40-300°С, 28-34 мин - 300°С. Сканирование проводили в диапазоне m/z 15-400 Да. Температура инжектора -250°С, температура источника ионизации -250°С, температура интерфейса -250°С, напряжение на детекторе -400 еВ. Ввод пробы осуществляли в двух режимах: ввод 0.5 мл нагретого (80°С, 10 мин) пара над образцом порошка растительного происхождения с добавкой 1 мл метанола и 1

мкл жидких экстрактов  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , EtOAc и MeOH из этого порошка, разбавленных в 100 раз в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

### Результаты и обсуждение.

В ходе предварительных экспериментов в образце были обнаружены следующие соединения, которые представлены в таблице 2.

Таблица 2. Химические вещества, обнаруженные в экстрактах

	Содержание в колбе, мкг					
	Гиперозид	Кверцетин	Лютеолин	Галловая кислота	Урсоловая кислота	Хлорогеновая кислота
MeOH экстр.	0,15	0,06	0,02	16	108	0,04
EtOAc экстр.	0,04	0,04	0,01	12	9	0
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ экстр.	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО

Также в экстрактах присутствовала коричная кислота в следовых количествах. Не найдены арбутин, байкалин, байкалеин, кемпферол, скутелларин, дельфинидин, апигенин, изорамнетин, вогонин, рутин. Однако сопоставление УФ и МС/МС спектров позволяют судить о том, что в данном образце содержатся дополнительные неидентифицированные соединения. Их идентификация требует дополнительных исследований.

Наибольшее извлечение целевых компонентов показал вариант экстракции с использованием метанола (рис. 1).

В экстракте EtOAc было обнаружено сравнительно меньшее число летучих компонентов (около 20). Из них характерными для исследуемого образца являются предельные кислоты и их эфиры.

Экстракция  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и MeOH позволяет выделить намного больше (около 100) летучих компонентов из исследуемого объекта.

Основными компонентами  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и MeOH экстрактов являются предельные углеводороды и спирты. Кроме того в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  обнаружен ароматический спирт - 2,4-диизобутил-фенола.

Выводы. Химические ГХ-МС профили исследованных экстрактов типичны для растительных объектов, однако следует отметить отсутствие летучих производных фурана, что косвенно свидетельствует об отсутствии в образце больших количеств моно- и дизамещенных сахаридными остатками органических компонентов.

Исследованный образец растительного сырья не содержит больших количеств среднелетучих органических соединений сложной структуры, таких как, например, незамещенные сапонины и сесквитерпены.

Перспективы исследования химического состава образца принадлежат методам жидкостной хроматографии, позволяющей идентифицировать и определять нелетучие физиологически активные компоненты.

Методом ВЭЖХ-МС в образцах экстрактов обнаружили галловую кислоту, коричневую кислоту, хлорогеновую кислоту, кверцетин, рутин, урсоловую кислоту, лютеолин и гиперозид. Однако сопоставление УФ и МС/МС спектров позволяют судить о том, что в данном растении содержатся дополнительные неидентифицированные соединения. Их идентификация требует дополнительных исследований.

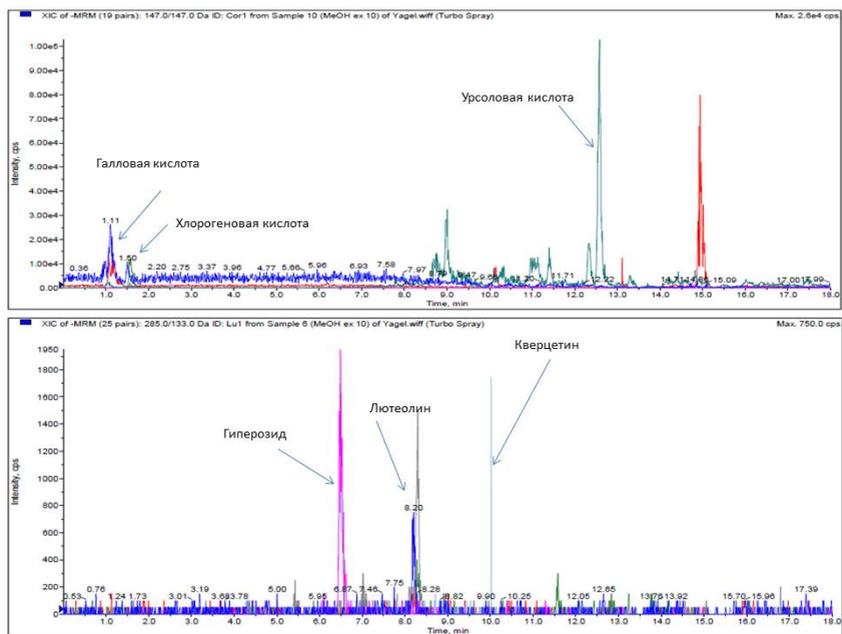


Рис. 1. Хроматограммы MeOH экстракта с извлечением ионных переходов обнаруженных соединений.

## Литература

1. Оводов Ю.С. Полисахариды грибов, мхов и лишайников, структура и физиологическая активность // Проблемы химии древесины и лесохимии. Труды коми научного центра УрО РАН. - 1997. - № 156. - С. 21-30.
2. Аньшакова В.В. Механохимическая технология получения биоконплексов на основе лишайникового сырья. // Биофармацевтический журнал. - 2011. - Т. 3. № 5. - С. 33-42.

3. Аньшакова В.В. «Биотехнологическая механохимическая переработка лишайников рода *Cladonia*» (монография). - М.: Издательский дом Академии Естествознания, 2013. -116 с.
4. Anshakova V.V. Toxicological studies of food supplement «Yagel Detox» // Russian Journal of Biopharmaceuticals - 2014. Т. 6. № 3. - P. 36-39.

**ИССЛЕДОВАНИЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ  
ФОСФОПАНТЕТЕИН АДЕНИЛИЛТРАНСФЕРАЗЫ ИЗ  
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS СОДЕРЖАЩЕЙ ПОЛНЫЙ  
ГЕКСАМЕР В НЕЗАВИСИМОЙ ЧАСТИ ЭЛЕМЕНТАРНОЙ ЯЧЕЙКИ**

Тимофеев В.И., Чупова Л.А., Есипов Р.С., Куранова И.П.

Институт кристаллографии РАН, Москва,  
Институт биоорганической химии РАН, Москва

*5460b6fee2b6c*

Фосфопантетеин аденилилтрансфераза *Mycobacterium tuberculosis* (PPAT Mt) катализирует предпоследнюю стадию пятистадийного биосинтеза кофермента А (CoA) – обратимый перенос аденильной группы АТФ на 4'-фосфопантетеин с освобождением пиродифосфата (PPi) и образованием дефосфокофермента А (dPCoA). Фосфорилирование dPCoA на следующей (последней) стадии процесса приводит к образованию CoA.

Биосинтез CoA - энергетически затратная реакция, скорость которой на ключевых стадиях регулируется по принципу обратной связи. Катализируемая PPAT реакция является такой ключевой стадией: при избыточной концентрации CoA, последний образует комплекс с PPAT и тем самым прерывает (ингибирует) дальнейшее течение процесса.

CoA участвует в многочисленных обменных реакциях в клетке, он необходим для жизнедеятельности патогенной микобактерии, вызывающей заболевание туберкулезом. Поэтому PPAT, регулирующая скорость образования CoA, является белком-мишенью, подходящей для поиска ингибиторов фермента – потенциальных антитуберкулезных лекарств. Существенным преимуществом PPAT Mt как белка-мишени является отсутствие сходства между бактериальными PPAT и соответствующими ферментами, участвующими в биосинтезе CoA в организмах млекопитающих.

На сегодняшний день известны трехмерные структуры PPAT в апо-форме и в комплексе с некоторыми функциональными лигандами (АТФ, CoA, dPCoA, PhP). С использованием этих данных был изучен механизм функционирования фермента [1,2,3,4], однако все они имеют одну или две субъединицы в независимой части ячейки, тогда как PPATMt функционирует в виде гексамера.

В настоящей работе впервые выращены кристаллы фосфопантетеин аденилилтрансферазы из *Mycobacterium tuberculosis* содержащие

полный гексамер в независимой части элементарной ячейки, с использованием которых получен рентгенодифракционный набор и установлена структура фермента при разрешении 2.0 Å (PDB ID: 4RON). Проведено сравнение межмолекулярных контактов в тригональных и ранее исследованных ромбических кристаллах. Показано, что в тригональных кристаллах, содержащих полный гексамер в независимой части элементарной ячейки, в межмолекулярные контакты вовлечена практически вся доступная поверхность молекулы, тогда как в ромбических кристаллах с одной субъединицей в независимой части ячейки зоной контакта является лишь участок аминокислотной последовательности с 67-го по 72-й остаток.

***Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект 14-02-31110\_мол\_а и ЦНИИМаш Роскосмоса.***

## **Литература**

1. V.I. Timofeev, E.A. Smirnova, L.A. Chupova, R.S. Esipov and I.P. Kuranova. // Acta cryst. 2012, D68, 1660-1670
2. В. И. Тимофеев, Е. А. Смирнова, Л. А. Чупова, Р. С. Есипов, И. П. Куранова // Кристаллография, 2012, т.57, стр. 102
3. В. И. Тимофеев, Е. А. Смирнова, Л. А. Чупова, Р. С. Есипов, И. П. Куранова. // Кристаллография. 2010, том 55, № 6, стр.1109
4. И. П. Куранова, Е. А. Смирнова, Ю. А. Абрамчик, Л. А. Чупова, Р. С. Есипов, В. Х. Акпаров, В. И. Тимофеев, М. В. Ковальчук. // Кристаллография, 2011, том 56, № 5, с. 941-948

**КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ  
РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ФОСФОРИБОЗИЛПИРОФОСФАТСИНТЕАЗЫ E. COLI**

Тимофеев В.И., Жухлистова Н.Е., Абрамчик Ю.А., Муравьева Т.И.,  
Ярославцева А.К., Степаненко В.Н., Есипов Р.С., Куранова И.П.

Институт кристаллографии РАН, Москва,  
Институт биоорганической химии РАН, Москва

5422a52e36fe5

Фосфорибозилпирофосфат синтетазы (PRPPS) катализируют синтез 5-фосфорибозил-1-пирофосфата (5-PRPP), посредством переноса  $\beta, \gamma$ -пирофосфатной группы АТФ на С1-гидроксильную группу рибозо-5-фосфата. Продукт реакции 5-PRPP является ключевым клеточным метаболитом, участвующим в синтезе пуриновых и пиримидиновых оснований *de novo* и по запасному (*salvage*) пути. Кроме того, 5-PRPP является интермедиатом при синтезе нуклеотидных кофакторов NAD and NADH, аминокислот гистидина и триптофана в организмах прокариот и эукариот.

Ферменты семейства PRPPS из различных видов организмов имеют высокую степень гомологии, показывающую консервативность их первичных структур, однако заметно различаются по специфичности относительно донора пирофосфатной связи и по четвертичной структуре биологически активной формы. Биологически активными формами ферментов из разных источников являются гексамер, тетрамер или димер.

Для активности PRPPS требуется присутствие ионов магния и фосфата, так что истинным субстратом ферментов является  $MgATP$ , ионы фосфата являются активаторами многих PRPPS и увеличивают стабильность ферментов. Активность PRPPS строго регулируется ингибированием по механизму обратной связи и ингибированием по аллостерическому механизму, причём главным аллостерическим ингибитором является АДФ, который связывается в центре, отличном от активного. Нарушение механизма регуляции активности PRPPS человека приводит к нарушениям развития нервной системы и вызывает гиперурикемию и подагру.

PRPPS *E. coli* широко применяется в биотехнологии для синтеза природных нуклеотидов и их модифицированных аналогов комбинацией

химических и ферментативных методов, мутантные формы фермента используются для ферментативного синтеза гистидина. Знание пространственной структуры PRPPS необходимо для направленного поиска мутантных форм с заданной специфичностью и увеличенной активностью.

В данной работе для последующего исследования пространственной структуры была приготовлена и очищена рекомбинантная PRPPS E. coli. Методом диффузии паров в висячей капле проведён скрининг условий кристаллизации. Найденные этим методом условия кристаллизации оптимизированы применительно к методу встречной диффузии в капилляре через слой геля. Кристаллы для рентгеновского исследования выращены методом встречной диффузии в капилляре на Международной космической станции по технологии, описанной в работах [1,2]. Для кристаллизации использовали растворы белка в 0.02 М Трис-буфере pH 7.5, содержащем 0.04%  $\text{NaN}_3$ , концентрация белка равна 14 мг/мл. В качестве осадителя использовали 15%-ный сульфат аммония в 0.1 М Tris-буфере, pH8.0; содержащий 0.3 М NaCl.

Дифракционный набор данных до разрешения 3 Å собран с одного кристалла на синхротроне SPRING 8 (Япония). Кристалл для съёмки был предварительно заморожен в криорастворе, содержащем 15% глицерина, добавленного в раствор осадителя. Набор собран методом вращения при длине волны 0.8 Å, угол вращения 180°, угол качания 0.5°. Расстояние кристалл - детектор 450 мм. Экспериментальные интенсивности обработаны до разрешения 3.0 Å с использованием программного пакета Mosflm. Кристалл принадлежит к пространственной группе P6(3)22. Полученный набор пригоден для решения пространственной структуры фермента методом молекулярного замещения.

***Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 14-22-01078\_офи\_м, и ЦНИИМаш Роскосмоса.***

## **Литература**

1. Takahashi S. et al., Acta Cryst. F. 2010. V. 66. P. 846.
2. Kuranova I.P. et al., Crystallography reports, 2011, v56, №5, p.884.

**ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ  
ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА И БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА У  
MYTILUS EDULIS L. В ОТВЕТ НА КРАТКОСРОЧНОЕ  
ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ**

Фокина Н.Н., Немова Н.Н.

ИБ КарНЦ РАН

5461f33bef6b4

Для пойкилотермных организмов, в том числе двустворчатых моллюсков *Mytilus edulis* L., температура является определяющим фактором среды обитания. Изменение температуры напрямую влияет на их физиологические и биохимические процессы, среди которых достаточно подробно описаны компенсаторные изменения на уровне активности большинства ферментов, жирнокислотного состава мембран и ее жидкости, а также других показателей метаболизма (Хочачка и Сомеро, 1988; Storey, Storey, 1990). Поскольку ответная реакция двустворчатых моллюсков на уровне транскрипции различных генов в ответ на действие температуры окружающей среды сравнительно менее подробно изучена (Boutet et al., 2009), анализ изменений экспрессии некоторых генов позволит расширить представления о механизмах температурных адаптаций у пойкилотермных организмов. В организме липиды играют мультифункциональную роль, участвуя в регуляции как энергетического, так и мембранного гомеостаза (Thorne et al., 2010). В настоящей работе описана реакция двустворчатых моллюсков на уровне экспрессии генов некоторых ферментов липидного метаболизма, а именно десатураз (GB:JK480914, GH196582 и CB617498), гепатопанкреатической липазы (GB:DQ176013.1) и фосфолипазы A<sub>2</sub> (GB:DQ172904.1), в ответ на краткосрочные воздействия температуры окружающей среды. Более того, показаны изменения в активности гена белков теплового шока 90 (БТШ90, GB:AM236589.2), которые, как известно, являются индикаторами термического стресса (Gracey et al., 2008; Fabbri et al., 2008; Banni et al., 2011).

На базе ББС «Картеш» ЗИН РАН были проведены аквариальные эксперименты в апреле (0+3°C) и августе (+8°C) 2012 г, в ходе которых температура воды в аквариумах была увеличена от 0+3°C до +8°C (в апреле) и снижена от +8°C до 0+3°C (в августе). Отбор проб проводился после 1- и 24- часового воздействия. Затем мидии были возвращены к

исходным температурным условиям: 0-+3°C и +8°C. Образцы жабр и гепатопанкреаса брали на анализ экспрессии генов (n=5) по истечении 1, 24 и 72 часов. Исследование экспрессии генов осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени на приборе iCycler («Bio-Rad», США). Уровень экспрессии генов был рассчитан относительно референсного гена (GB:Z29550.1) - 28S рРНК (Livak, Schmittgen, 2001). Достоверность различий оценивалась непараметрическим критерием Манна-Уитни.

Сравнение экспрессии генов некоторых ферментов липидного метаболизма и БТШ90 в контрольных группах мидий *Mytilus edulis*, собранных в апреле и августе, показало наличие у них сезонных особенностей. Так, в жабрах «августовских» мидий заметно выше был уровень экспрессии гена БТШ90, а в гепатопанкреасе, наиболее активном метаболическом органе двустворчатых моллюсков (Banni et al., 2011), отмечен повышенный уровень всех исследуемых генов. Вероятно, эти особенности в активности генов обусловлены физиологическим состоянием моллюсков, которые в апреле из-за пониженных температур и отсутствия в морской воде фитопланктона находятся в состоянии сниженного метаболизма, что позволяет им пережить эти неблагоприятные условия среды обитания (Gabbott, 1983; Storey, Storey, 1990; Бергер, 2007).

Снижение активности генов десатураз в жабрах мидий в ответ на повышение температуры от 0-+3°C до +8°C и, напротив, повышение их экспрессии при возвращении моллюсков к исходным температурным условиям, близким к 0°C, свидетельствует, по-видимому, об участии этих ферментов у двустворчатых моллюсков в компенсаторном ответе по механизму «адаптации гомеовязкости» мембран (Хочачка и Сомеро, 1988).

Понижение активности гена гепатопанкреатической липазы в жабрах и гепатопанкреасе «апрельских» мидий при влиянии низких температур (0-+3°C) свидетельствует, вероятно, о развитии одной из основных адаптивных стратегий двустворчатых моллюсков - супрессии АТФ-зависимых процессов, приводящей к снижению общего метаболизма и развитию у них гипометаболического состояния (Storey, Storey, 1990; Boutet et al., 2009).

В гепатопанкреасе «августовских» мидий в ответ на суточное понижение температур от +8°C до 0-+3°C отмечалась повышенная экспрессия всех исследуемых генов, что, вероятно, подтверждает активацию синтеза белков *de novo* в стрессовых условиях (Thorne et al., 2010), которая, в свою очередь, способствует адаптации моллюсков к кратковременному воздействию температур, близких к 0°C. Так,

активация генов десатураз направлена, по-видимому, на поддержание необходимой жидкостности мембран в условиях действия низких температур, а высокая активность гепатопанкреатической липазы и фосфолипазы A<sub>2</sub> способствует обеспечению организма энергетическими и физиологически-активными молекулами. Известно, что гепатопанкреатическая липаза вовлечена в катаболизм триацилглицериннов, участвует в высвобождении жирных кислот, которые увеличивают энергетическую продукцию в организме посредством β-окисления (Thorne et al., 2010). Фосфолипаза A<sub>2</sub> ответственна на высвобождение из состава фосфолипидов мембран арахидоновой кислоты, которая является метаболическим предшественником для синтеза биологически-активных веществ - эйкозаноидов.

Повышенная экспрессия гена БТШ90 при суточном воздействии как повышенной, так и пониженной температуры окружающей среды подтверждает участие этих белков в температурных адаптациях двустворчатых моллюсков (Fabbri et al., 2008).

Таким образом, ответная реакция двустворчатых моллюсков *Mytilus edulis* на уровне транскрипции генов некоторых ферментов липидного метаболизма, а также белков теплового шока 90, указывает на развитие адаптивных механизмов, направленных на поддержание жидкостности мембран и обеспечение энергетических потребностей организма при краткосрочном воздействии различных температур.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ББС «Картеш» ЗИН РАН за возможность проводить исследования на биостанции. Результаты данного исследования получены при использовании ЦКП научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН. Финансовое обеспечение настоящего исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема №51.3, №г.р.01201358735); грантов Президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ 1642.2012.4 и НШ-1410.2014.4), РФФИ № 12-04-32205\_мол\_а и программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

## Литература

1. Бергер В.Я. Продукционный потенциал Белого моря. СПб.: ЗИН РАН. 2007. 292 с.
2. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир. 1988. 586с.
3. Banni M., Negri A., Mignone F., Boussetta H., Viarengo A., Dondero F. PLoS

- ONE. 2011. Vol. 6(5). pp. 1-12.
4. Boutet I., Tanguy A., Le Guen D., Piccino P., Hourdez S., Legendre P., Jollivet D. Proc. R. Soc. B. 2009. Vol. 276. pp. 3071-3079.
  5. Fabbri E., Valbonesi P., Franzellitti S. Invertebrate survival journal. 2008. №5. pp. 135-161.
  6. Gabbott P.A. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. In: Mollusca vol. 2 Environmental biochemistry and physiology. Academic press Inc. 1983. pp. 165-217.
  7. Gracey A.Y., Chaney M.L., Boomhower J.P., Tyburczy W.R., Connor K. et al. Current Biol. 2008. Vol. 18. pp. 1501-1507.
  8. Livak K.J., Schmittgen N.D. Methods. 2001. V. 25(4). pp. 402-408.
  9. Storey K., Storey J. Quart. Rev. Biol. 1990. V. 65. pp. 145-174.
  10. Thorne M.A.S., Burns G., Fraser K.P.P., Hillyard G., Clark M.S. Marine Genomics. 2010. Vol. 3. pp. 35-44.

---

**ИЗМЕНЕНИЯ СУТОЧНОЙ РИТМИКИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ  
АКТИВНОСТИ КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ НА  
ФОНЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ  
ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКЕ**

Чернышев Ю.И., Плеханов А.Ю., Руденко Е.Д., Ключева Н.З.

ФБГУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,  
ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова

*5464abb1b21ad*

Для крыс со спонтанной гипертензией (линия SHR) характерны изменения метаболизма кальция в клетке, приводящие к накоплению в цитозоле несвязанной формы кальция [1]. Это в свою очередь вызывает изменения функционирования каскадов внутриклеточной сигнализации, связанные с нарушениями обмена кальция в клетках. На этом фоне может развиваться не только артериальная гипертензия, но и такие тяжелые заболевания, как синдром дефицита внимания с гиперактивностью у детей (СДВГА) и диабет II типа [2, 3].

Мы неоднократно доказывали, что в таких условиях в различных структурах мозга [4 и др.] наблюдается повышенная экспрессия и посттрансляционные изменения ряда белков основных субстратов протеинкиназы С, таких как NAP-22, GAP-43 и MARCKS [5]. Такие изменения можно обнаружить задолго до формирования устойчивого подъёма артериального давления [4].

Так как крысы SHR являются общепринятой моделью СДВГА, мы предположили, что у этих животных изменения метаболизма клеточных белков могут каким-то образом коррелировать с изменениями их суточной двигательной активности.

Исследования белков из полученных образцов мозга проводили методом электрофореза, используя общепринятые методики экстракции. Для оценки общего содержания NAP-22 изучаемый белок дезагрегировали хлороформом, осаждали ацетоном, экстрагировали 2%-ной ТХУ и осаждали в 10%-ной ТХУ с последующим промыванием спиртом, затем ацетоном. Полученные препараты, обогащённые NAP-22, наносили на старт гель-электрофореза с уксусной кислотой и мочевиной. По завершении электрофореза проводили иммунохимическую процедуру с использованием полученных нами поликлональных кроличьих антител против электрофоретически чистого NAP-22 крысы вторичных антител,

меченых пероксидазой хрена (Sigma).

NAP-22 определяли в гиппокампе и теменной коре головного мозга животных линий SHR и WKY в возрасте 5, 13, 18 и 30 дней.

Достоверность различий проверена непараметрическим тестом Краскелла-Уоллеса.

Для регистрации и наблюдения за двигательной активностью подопытных крыс был разработан специальный биотелеметрический комплекс (с использованием датчиков барьерного типа по бокам клеток), на базе климатической установки, позволяющей установить любой световой день и температурный режим.

Работа выполнена на 6 взрослых самцах линии SHR массой 180-250 граммов и на 6 взрослых самцах линии WKY такой же массы в возрасте 12-14-ти недель. В опыт брали животных с артериальным давлением не ниже 170 мм рт. ст. (крысы линии SHR) и не выше 125 мм рт. ст. (крысы линии WKY) (при измерении его манжеточным методом в хвосте). Животные содержались в одиночной клетке со свободным доступом к еде и воде в условиях 12-часового светового дня.

Исследования белка NAP-22 в гиппокампе показали, что в раннем постнатальном онтогенезе у крыс линии SHR его количество намного больше, чем у крыс линии WKY (рис. 1).

На рисунке 2 представлено различие в суточной ритмике двигательной активности крыс двух линий за ночной период и период светового дня в течение эксперимента. Синим цветом обозначены результаты первого опыта, фиолетовым - второго.

Различия в двигательной активности крыс оказались намного сильнее, чем различия между их дневной и ночной активностью. При этом статистическая достоверность обоих эффектов чрезвычайно высока. Из полученных результатов на основании дисперсионного анализа видно, что крысы линии SHR значительно более активны. И гипертензивные и нормотензивные животные значительно больше двигаются ночью, чем днем.

Изменения метаболизма белков в нейронах у крыс со спонтанной гипертонией развиваются намного раньше, чем формируется артериальная гипертония и выраженное изменение суточной ритмики двигательной активности. Наши результаты убедительно доказывают, что увеличение количества синтезируемого в нейронах головного мозга белка NAP-22 коррелирует с заметным увеличением суточной двигательной активности, что делает этот белок полезным в изучении СДВГА.

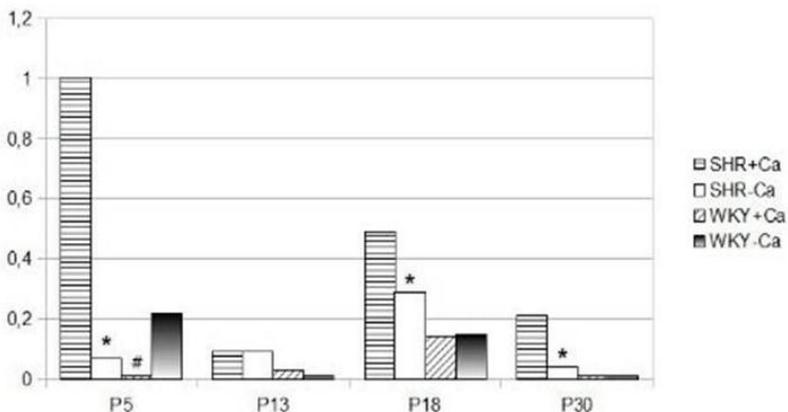


Рис. 1. Результаты денситометрирования геля. Неагрегированный NAP-22 в гиппокампе крыс линий SHR и WKY в онтогенезе в норме и в условиях дефицита кальция в питьевой воде.

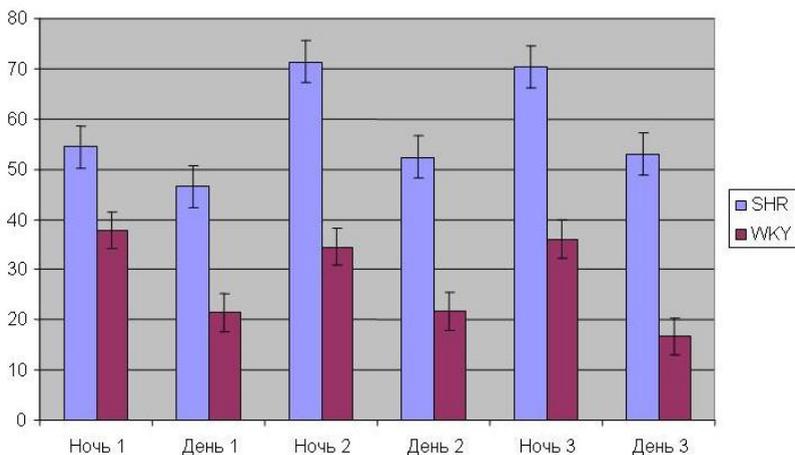


Рис. 2. Различия в суточной ритмике крыс разных линий в течение эксперимента.

## Литература

1. Bal M. S., Paulis L., Zicha J., Kuneš J. (2009) Effect of Protein Kinase C and Protein Kinase A Inhibitors on Contraction of Isolated Femoral Arteries of SHR and Wistar Rats. *Physiol. Res.* 58, 793-798.
2. С.К. Чурина, Н.З. Ключева, О.С. Антонова, Е.Д. Руденко, Е.И. Петрова

- Генетически детерминированные механизмы развития артериальной гипертензии при дефиците экзогенного кальция (паратиреоидный гипертензивный фактор) // Артериальная гипертензия , 2014, т.20, №5, стр.424-428.
3. KM Kantak, T Singh, KA Kerstetter, KA Dembro, MM Mutebi, RC Harvey, CF Deschepper, LP Dwoskin Advancing the Spontaneous Hypertensive Rat Model of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder // Behavioral Neuroscience – 2008. – Vol. 122 №2. – P. 340-357.
  4. О.С. Антонова, А.Ю. Плеханов, Е.И. Петрова, С.Я. Резник, Н.З. Ключева Структурные изменения белка NAP-22 — основного субстрата протеинкиназы С при кальций-зависимых формах артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия , 2011, т.17, №4, стр.342-346.
  5. Zakharov V.V., Mosevitsky M.I. Oligomeric structure of brain abundant proteins GAP-43 and BASP1 // J. Struct. Biol. — 2010. — Vol. 170, № 3. — P. 470-483.

## **ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ БЛОКАТОРА SH-ГРУПП**

Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л.

ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

54317aaa7849e

Опухолевая прогрессия характеризуется дизрегуляцией пролиферации и апоптоза трансформированных клеток. В клетках аденокарциномы молочной железы (линия MCF-7) активируются свободнорадикальные процессы, способствующие окислительной модификации протеинов. Установление молекулярных мишеней управления редокс-статусом трансформированных клеток является перспективной основой для разработки таргетной терапии опухолевых новообразований молочной железы. В интактной культуре клеток линии MCF-7 и при действии блокатора SH-групп N-этилmaleимида (NEM, 5 мМ) оценивали интенсивность окислительной модификации белков по уровню карбонильных производных аминокислотных остатков при спонтанных и металл-катализируемых процессах (альдегидфенилгидразоны при 274 нм и кетондинитрофенилгидразоны при 363 нм) [Арутюнян А.В. и др., 2000], а также по содержанию окисленного триптофана и образованию битиризиновых сшивок [Davies K.J., 1987; Бекман Э.М. и др. 2006].

В интактных клетках линии MCF-7 концентрация карбонильных производных белков, регистрируемая при длине волны 274 нм, составила 4,52 (3,26-7,34) у. е./мг белка, а при длине волны 363 нм – 5,48 (5,01-6,28) у.е./мг белка. При действии NEM в клетках аденокарциномы молочной железы выявлено увеличение ( $p < 0,01$ ) содержания карбонильных производных белков в 4,5 и 4,9 раза, соответственно. При исследовании металл-катализируемых модификаций белков в интактных клетках линии MCF-7 содержание карбонильных производных составило при длинах волн 274 нм и 363 нм, соответственно 16,34 (15,27-19,38) у.е./мг белка и 20,22 (20,09-20,84) у.е./мг белка. При добавлении блокатора SH-групп в среду культивирования опухолевых клеток концентрация карбонильных производных увеличивалась в 1,8 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с этим же показателем при длинах волн 274 нм и 363 нм в интактных клетках линии MCF-7. Увеличение концентрации альдегидфенилгидразонов в

клетках аденокарциномы молочной железы является ранним маркером окислительной деструкции протеинов и свидетельствует о начальном этапе повреждений белковых молекул при опухолевом росте. В тоже время кетондинитрофенилгидразоны, поздние маркеры окислительной деструкции белка, характеризуют степень повреждения белковой молекулы, и возрастание их уровня в клетках линии MCF-7 свидетельствует о значительной подверженности белков окислительным повреждениям при опухолевой прогрессии в условиях снижения редокс-статуса клеток, вследствие необратимого блокирования SH-групп белков и пептидов.

Окислению при участии активных форм кислорода подвергаются и отдельные радикалы аминокислот, в частности фенилаланина, триптофана, тирозина. Концентрация окисленного триптофана в клетках линии MCF-7 при действии NEM увеличивалась в 1,3 раза по сравнению с аналогичными значениями показателя в интактных культурах, составившими 18,12 (17,73-18,44) у.е./мг белка ( $p < 0,01$ ). При окислении тирозина образуются битирозиновые межмолекулярные сшивки в белках. Концентрация битирозина в интактных клетках аденокарциномы молочной железы составила 1,31 (1,22-1,35) у.е./мг белка, а при культивировании опухолевых клеток с блокатором SH-групп - уровень битирозиновых сшивок увеличился в 1,6 раза ( $p < 0,01$ ).

В целом редокс-регуляция протеинов и их свободнорадикальное окисление в клетках аденокарциномы молочной железы является перспективным направлением для разработки таргетной противоопухолевой терапии.

***Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ соглашение № НШ-4184.2014.7.***

## **Литература**

1. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбин. - СПб.: ИКФ "Фолиант". - 2000. - 103 с.
2. Davies, K.J. Protein damage and degradation by oxygen radicals. 1. General aspects / K.J. Davies // J. Biol. Chem. - 1987. - V. 262. - P. 9895-9901.
3. Бекман, Э.М. Оценка устойчивости к оксидативному стрессу плазмы крови по уровню окисляемости белков и липидов при

металлкатализируемом окислении / Э.М. Бекман, О.А. Баранова, Е.В. Губарева и соавт. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2006. - Т. 142, № 9. - С. 268-272.

## **ПРИМЕНЕНИЕ ТРИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЛОКСОПОЛИМЕРОВ ЭТИЛЕН- И ПРОПИЛЕНОКСИДА ДЛЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ДОСТАВКИ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК, КОДИРУЮЩЕЙ VEGF**

Шевченко В.Д., Бондарь О.В., Штырлин Ю.Г., Абдуллин Т.И.

НОЦ фармацевтики КФУ

5469d3ba06d54

**Целью** исследования явился поиск новых амфифильных блоксополимеров в качестве систем доставки нуклеиновых кислот в клетки человека и животных.

В работе использовали плазмидные ДНК, кодирующие зеленый флуоресцентный белок (pEGFP-N2) и фактор роста эндотелия сосудов (pVEGF165, препарат Неоваскулген®), полиэтиленимин (ПЭИ) с молекулярной массой 25 кДа, коммерческий трансфицирующий реагент TurboFect™ и трифункциональные блоксополимеры этилен- и пропиленоксида, выпускаемые под маркой Лапрол, имеющие различные физико-химические свойства.

С помощью электрофореза в агарозном геле и динамического рассеяния света установлена стехиометрия образования комплексов плазмидной ДНК с полиэтиленимином и блоксополимерами. Исследованы цитотоксические и мембраноповреждающие свойства амфифильных полимеров. Установлено, что TurboFect™ образует более компактные положительно заряженные комплексы с пДНК и обеспечивает более высокую экспрессию EGFP в клетках эмбриональной почки человека (HEK293) и кожных фибробластах человека по сравнению с ПЭИ. Обнаружено, что амфифильные блоксополимеры слабо взаимодействуют с "голой" плазмидной ДНК и не улучшают ее внутриклеточную доставку *in vitro*. Добавление амфифильных блоксополимеров в нетоксичных концентрациях к комплексам pEGFP-N2 и pVEGF165 с ПЭИ приводило к существенному увеличению числа клеток, экспрессирующих EGFP и существенно повышало концентрацию фактора эндотелиального роста сосудов в культуральной среде.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки безопасных и эффективных систем доставки нуклеиновых кислот, кодирующих терапевтические гены, в клетки человека.

## **Литература**

1. Thomas M., Klibanov A.M. Non-viral gene therapy: polycationmediated DNA delivery. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2003; 62:27–34.
2. Tiera M.J., Shi Q., Winnik F.M. et al. Polycation-based gene therapy: current knowledge and new perspectives. Current Gene Therapy 2011; 11(IV): 288–306.
3. Штырлин Ю.Г., Абдуллин Т.И., Бондарь О.В. и др. Трехфункциональные блоксополимеры этиленоксида и пропиленоксида для доставки активных веществ в живые клетки. Заявка на патент РФ №2012119390. 2012 Май 11.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАЗВЕТВЛЁННЫХ НЕОГЛИКОКОНЬЮГАТОВ С ЛЕКТИНОМ RCA-1**

Щелик И.С., Буданова У.А., Магасумова А.И., Гостенин В.Б.,  
Себякин Ю. Л.

МИТХТ им. М.В. Ломоносова

543247c9460db

Исследования специфических изменений клеточных рецепторов при онкотрансформации представляют особый интерес в области изучения онкологических заболеваний. Исследование функций гликоконъюгатов, как составной части клеточных рецепторов, убедительно продемонстрировали ключевую роль углеводной составляющей при опухолевом процессе.

Нами были получены ди-, тетра- и гептавалентные гликоконъюгаты с гидрофобными остатками для встраивания в систему липосомальной доставки. Для изучения возможности применения синтезированных соединений, как маркерных молекул в составе липосом было исследовано взаимодействие модифицированных везикул с галактозосвязывающим лектином клещевины ( $RCA_1$ ).

Было исследовано взаимодействие липосом, модифицированных полученным гептавалентным неогликоконъюгатом с лектином клещевины  $RCA_1$ . Наиболее эффективное связывание показало гептавалентное соединение, чем ранее исследованное тетравалентное соединение.

Полученные данные свидетельствуют о влиянии на эффективность связывания маркер-рецептор количество терминальных углеводных остатков. С увеличением числа остатков галактозы увеличивается средство модифицированной липосомы к лектину  $RCA_1$ .

***Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 14-04-01557).***

## ЭКСПРЕССИЯ МРНК ГАЛЕКТИНА-1 ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Якушина В.Д., Васильева О.А.

ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

543939a6566e5

**Введение.** Галектин-1, первый описанный представитель семейства галектинов, представляет собой белок с молекулярной массой 15 кДа, секретируемый клетками лимфоузлов, тимуса, селезенки, а также макрофагами, В-лимфоцитами, дендритными клетками и другими. Углевод-распознающий домен (CRD) галектина-1 связывает поли-N-ацетиллактозамин-богатые гликолипиды и гликопротеины клеточной поверхности CD45, CD43, CD7, CD2, CD3, ганглиозид GM1, ламинин и фибронектин. В результате связывания указанных лигандов, галектин-1 модулирует функциональную активность, дифференцировку, пролиферацию и апоптоз иммунокомпетентных клеток, что определяет иммунорегуляторное значение данного лектина [1].

К настоящему времени в литературе представлены результаты экспериментальных работ *in vivo* и *in vitro*, свидетельствующие об иммуносупрессорном эффекте галектина-1 и возможном значении данного белка в патогенезе аутоиммунных заболеваний, в том числе ревматоидного артрита. Так на экспериментальных моделях ревматоидного артрита *in vivo* была показана терапевтическая эффективность галектина-1 [2; 3]. Кроме того, установлена повышенная чувствительность мышей с нокаутом гена галектина-1 к коллаген-индуцированному артриту [4]. В связи с этим, исследования показателей галектин-1-опосредованной кооперации клеток (в том числе, полиморфизма гена галектина-1, продукции галектина-1, конформационных состояний белковой молекулы, а также экспрессии лигандов галектина-1 на клетках-мишенях, и последующих сигнальных каскадов) при ревматоидном артрите представляют интерес для развития представлений о патогенезе ревматоидного артрита и разработки новых терапевтических и диагностических подходов.

**Целью** представленной работы явилось оценить уровень экспрессии мРНК галектина-1 в мононуклеарных клетках здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на мононуклеарных

лейкоцитах здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом. В исследование были включены пациенты, отвечающие следующим критериям: активность болезни - ремиссия ( $DAS28 < 2,6$ ); ревматоидный фактор - серопозитивный; антитела к циклическому цитрулин-содержащему пептиду - серопозитивный; продолжительность заболевания - не более года с момента постановки диагноза.

Кровь получали утром натощак из локтевой вены в вакуумные пробирки с КЗ-ЭДТА объемом 9 мл. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из цельной венозной крови методом градиентного центрифугирования. Процедуру выделения РНК проводили сорбентно-колоночным методом с помощью набора реактивов «Ахургер multisource total RNA miniprep kit» (Eurogen) согласно протоколу производителя. Для синтеза ДНК на матрице РНК готовили реакционную смесь: 9 мкл (0,5-2 мкг) РНК, 1 мкл (100 нг) статистического праймера (N9), 10 мкл RT-буфера, 200 ед. акт. ДНК-зависимой РНК полимеразы. Реакцию обратной транскрипции осуществляли в течение 60 мин при  $t=42^{\circ}\text{C}$ .

Полимеразную цепную реакцию проводили для гена галектина-1 (в качестве нормировочного гена был выбран ген  $\beta 2$ -микроактин). В работе была использована смесь 5хqPCRMix-HS SYBR (Eurogen), в состав которой входят следующие компоненты: Taq ДНК полимеразы со специфическими моноклональными антителами (HS Taq ДНК полимеразы), краситель SYBR Green I, смесь нуклеотидтрифосфатов,  $\text{Mg}^{2+}$ , реакционный буфер. Для проведения амплификации готовили реакционные смеси из расчета 25 мкл на пробу, содержащие qPCRMix-HS SYBR (Eurogen), доведенную до 1х концентрации деионизованной водой, и 2 мкл праймера к гену галектину-1 (F: AACCTGGAGAGTGCCTTCGA; R: GTATTGATGGCCTCCAGG T) либо  $\beta 2$ -микроактина. В каждую пробу к реакционной смеси добавляли 2 мкл кДНК и переносили в амплификатор. Реакцию амплификации выполняли в следующем режиме:

- удерживание температуры 1 -  $95^{\circ}\text{C}$  - 3 мин;
- новое циклирование -  $95^{\circ}\text{C}$  - 15 сек;  $62^{\circ}\text{C}$  - 15 сек;  $72^{\circ}\text{C}$  - 30 сек;
- удерживание температуры 2 -  $72^{\circ}\text{C}$  - 3 мин;
- количество циклов - 30.

Уровень экспрессии галектина-1 в мононуклеарных лейкоцитах здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом вычисляли по формуле  $dCt = 2^{(Ct_{\text{искомого гена}} - Ct_{\text{нормировочного гена}})}$ .

**Результаты и обсуждение.** Нами была исследована экспрессия гена галектина-1 в мононуклеарных лейкоцитах здоровых доноров и

пациентов с ревматоидным артритом. Количество мРНК галектина-1 составило 28,42(19,39 - 34,44) усл.ед. - в клетках здоровых доноров, и 4,22(0,58 - 6,56) усл.ед. (рисунок 1). - в клетках пациентов с ревматоидным артритом. Анализ с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни выявил достоверность различий значений исследованного показателя в сравниваемых группах ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, установлено, что мононуклеарные клетки пациентов, страдающих ревматоидным артритом, характеризуются сниженной экспрессией галектина-1. Учитывая важную роль галектина-1 в регуляции иммунного ответа, низкий уровень экспрессии мРНК галектина-1 может рассматриваться в качестве патогенетического фактора развития данного аутоиммунного заболевания. Факт снижения экспрессии галектина-1 был установлен также при иных патологических процессах. В том числе, De la Fuente H. et al. (2012) установили снижение экспрессии галектина-1 в клетках Лангерганса, дендритных клетках кожи и CD11c(+) дендритных клетках периферической крови у пациентов с псориазом [5]. Дальнейшие исследования позволят оценить информативность экспрессии галектина-1 в качестве диагностического маркера при ревматоидном артрите и других аутоиммунных заболеваниях.

**Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (СП-208.2012.4).**

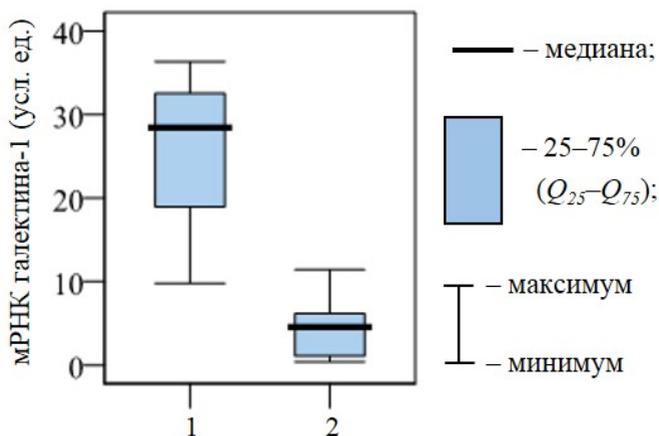


Рис. 1. Количество мРНК галектина-1 в мононуклеарных клетках здоровых доноров (1) и пациентов с ревматоидным артритом (2)

## **Литература**

1. The immunological potential of galectin-1 and -3 / A. Dhirapong, A. Lleo, P. Leung et al. // *Autoimmun Rev.* - 2009. - Vol. 8, № 5. - P. 360-363.
2. Intra-articular lentivirus-mediated delivery of galectin-3 shRNA and galectin-1 gene ameliorates collagen-induced arthritis / C.R. Wang, A.L. Shiau, S.Y. Chen et al. // *Gene Ther.* - 2010. - Vol. 17, № 10. - P. 1225-33.
3. Multivalent structure of galectin-1-nanogold complex serves as potential therapeutics for rheumatoid arthritis by enhancing receptor clustering / Y.J. Huang, A.L. Shiau, S.Y. Chen et al. // *Eur. Cell. Mater.* - 2012. - Vol. 23. - P. 170-181.
4. Endogenous galectin-1 exerts tonic inhibition on experimental arthritis / A.J. Iqbal, D. Cooper, A. Vugler et al. // *J Immunol.* - 2013. - Vol. 191, № 1. - P. 171-177.
5. Psoriasis in humans is associated with down-regulation of galectins in dendritic cells / H. de la Fuente, S. Perez-Gala, P. Bonay et al. // *J. Pathol.* - 2012. - Vol. 228, № 2. - P. 193-203.

**STUDYING THE EFFECT OF PERSPECTIVE NEUROPROTECTORS ON  
MICROVISCOSITY OF MICE BRAIN SYNAPTOSOMAL MEMBRANES  
IN VIVO**

Nevrova O.V., Gerasimov N.Yu., Goloshchapov A.N., Kasparov V.V.,  
Kovarskii A.L., Burlakova E.B.

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences

*54626ba42793d*

In this work membrane fluidity alterations in synaptosomes, isolated from mice brain tissue, at chronic administration of perspective neuroprotectors Dimebon and NT-1505 in vivo were studied. Membrane microviscosity was measured by electron paramagnetic resonance spin labeling of 2,2,6,6-tetramethyl-4-capryloyl-oxypiperidine-1-oxyl and 5,6-benzo-2,2,6,6-tetramethyl-1,2,3,4-tetrahydro- $\gamma$ -carboline-3-oxyl. It was shown that the neuroprotectors Dimebon and NT-1505 affect a membrane structure. Despite the difference in membrane structures, fluidity of the lipid bilayer in time returned to control values. Consequently, the microviscosity of membranes plays an important role in the cell metabolism and comes to be an important structural characteristic. In this way, during assorting preparations for therapy of diseases one should take into account the change in lability and structure of membranes, which, possibly, will allow avoiding side actions and elevating the effectiveness of medicinal means.

<b>Абдрахимова Й.Р., Абдрахимов Ф.А., Шугаев А.Г. ФЛУОРОГЕННЫЕ</b> .....	9
ИНДИКАТОРЫ ДЛЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ АФК: ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ	
<b>Акулина Е.А., Кузнецова Е.С., Жаркова И.И., Бонарцева Г.А., Бонарцев А.П.</b> .....	13
ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРИСТЫХ МАТРИКСОВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИГИДРОКСИБУТИРАТА	
<b>Альдекеева А.С., Корнева Н.А., Петрова Е.И., Руденко Е.Д., Чернышев</b> .....	15
Ю.И., Ключева Н.З. У КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (ЛИНИЯ SHR) ПРИ ДЕЙСТВИИ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МРНК NAP-22 В ТЕМЕННОЙ КОРЕ ЗАВИСИТ ОТ СОДЕРЖАНИЯ КАЛЬЦИЯ В ДИЕТЕ	
<b>Аньшакова В.В., Уваров Д.М., Смагулова А.Ш., Степанова А.В. МИП</b> .....	18
«МЕХАНОХИМИЧЕСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ» - ОТ ИДЕИ ДО ПРОДУКЦИИ	
<b>Асакова Е.Н., Морева Д.А., Гришина О.В., Гарусова Е.В. СОДЕРЖАНИЕ</b> .....	22
ВИТАМИНОВ С И Р В СБОРАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ТРАВ	
<b>Аюпов Р.Х., Акберова Н.И ПРЕДСКАЗАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ</b> .....	25
МОДЕЛИ CFR БЕЛКА STAPHYLOCOCCUS AUREUS	
<b>Ахмадеева Л.А., Белините М.А., Фаттахова А.Н. РАЗЛИЧИЯ</b> .....	27
БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ГЕПАТОЦИТОВ, КУЛЬТИВИРОВАННЫХ НА ИСКУССТВЕННЫХ МАТРИЦАХ	
<b>Баширова Р.М., Галкин Е.Г., Фаттахов А.Х., Мустафин А.Г. СОДЕРЖАНИЕ</b> .....	28
ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНДУКТОРОВ КЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ В КОРНЕВОЙ СИСТЕМЕ FILIPENDULA VULGARIS MOENCH	
<b>Баянов В.А., Шевченко Д.С., Романов Р.В., Рахимова О.В.</b> .....	31
БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОКСОМЕТАЛЛАТОВ НА ПРИМЕРЕ СЕРЕБРЯНОЙ СОЛИ GERMANOMОЛИБДАТА	
<b>Белините М.А., Перес Х.Э., Фаттахова А.Н. ADHESION OF HUMAN AND</b> .....	36
ANIMAL CELLS ON THE MODIFIED GLASS	
<b>Бессолицына Е.К., Ермакова Е.А., Топоркова Я.Ю. ТЕОРЕТИЧЕСКИ</b> .....	37
РАССЧИТАННАЯ ПРОСТРАНСТВЕННАЯ МОДЕЛЬ МИНИ-ФЕРМЕНТА, МОДЕЛИРУЮЩЕГО КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР АЛЛЕНОКСИДСИНТАЗЫ LEAOS3 (CYP74C3) ТОМАТА	
<b>Бондарь О.В., Лебедев Д.В., Шевченко В.Д., Осин Ю.Н., Штырлин Ю.Г.,</b> .....	39
Абдуллин Т.И. ПРИМЕНЕНИЕ АСМ В ЖИДКОСТИ ДЛЯ АНАЛИЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕМБРАНОТРОПНЫХ ПОЛИМЕРОВ С ПЛАЗМАЛЕММОЙ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ	
<b>Бурнашева Е.В., Ламажапова Г.П., Жамсаранова С.Д., Сынгеева Э.В.</b> .....	42
ОЦЕНКА ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СБОРА	

<b>Васильева О.А., Васильев А.С., Якушина В.Д. РЕГУЛЯЦИЯ</b> .....	48
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ТН2-ЛИМФОЦИТОВ ГАЛЕКТИНАМИ 1-ГО И 3-ГО ТИПОВ IN VITRO	
<b>Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Голощанов А.Н., Каспаров В.В., Коварский</b> .....	53
А.Л., Бурлакова Е.Б. ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА КАК МЕМБРАННОЙ ПАТОЛОГИИ	
<b>Деянов Р.З., Шедрин Б.М. МЕТОД ГЛОБАЛЬНОЙ МИНИМИЗАЦИИ</b> .....	55
СУММЫ ПАРНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ОДНОТИПНЫХ АТОМОВ	
<b>Елсукова Е.И. СОДЕРЖАНИЕ КАТИОНОВ НАТРИЯ, КАЛИЯ И</b> .....	60
ПЛАСТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В БУРОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ МЫШЕЙ И КРЫС ПРИ РАЗНЫХ ВИДАХ ПИЩЕВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ	
<b>Жмудь А.А. СИНТЕЗ ОРГАНИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ В НАСЫЩЕННЫХ</b> .....	65
АТОМАРНЫМ УГЛЕРОДОМ ЭЛЕКТРОЛИТАХ	
<b>Сафаров М.М., Зарипова М.А., Давлатов Н.Б., Иман Бахроми Маниш,</b> .....	66
Назруллоев А.С., Зоиров Х.А. ВЛИЯНИЕ НАНО ЧАСТИЦЫ Фуллерен (C70) , НЕКОТОРЫХ НЕПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ И ИХ ОКИСЕЙ НА ИЗМЕНЕНИЕ ТЕПЛОПРОВОДНОСТИ НИЗКОЗАМЕРЗАЮЩИХ ТОПЛИВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ И ДАВЛЕНИЯХ (ОБЗОР И ЭКСПЕРИМЕНТ)	
<b>Исаева А.В., Зима А.П., Саприна Т.В., Латыпова В.Н., Березкина И.С.,</b> .....	77
Касоян К.Т., Брынова О.В. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МРНК БЕТА-КАТЕНИНА (CTNNB) И ЦИКЛИНА D1 (CCND1) В ЖИДКОСТНЫХ ОБРАЗЦАХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	
<b>Камалиева Р.Ф., Абдрахимова Й.Р. ФУНГИЦИДНЫЕ И</b> .....	80
РОСТ-СТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ БИОНАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, СИНТЕЗИРОВАННЫХ «ЗЕЛЕНЫМ» МЕТОДОМ	
<b>Книсс В.А. ТЛИ (INSECTA, НОМОПТЕРА, АРНІDІDАЕ) В СКРИНИНГЕ</b> .....	81
ТОКСИЧНЫХ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	
<b>Коротков С.М., Брайловская И.В., Емельянова Л.В., Коновалова С.А.</b> .....	89
ИНГИБИРОВАНИЕ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ СТИМУЛИРОВАЛО ОТКРЫТИЕ TL+-ИНДУЦИРОВАННОГО КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМОГО НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО КАНАЛА В ИХ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЕ	
<b>Курбатова И.В., Топчиева Л.В., Малышева И.Е., Корнева В.А. СОСТАВ</b> .....	91
ЛИПИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ДОНОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ IL6 И TNF	
<b>Мешкова Е.М., Томилова И.К., Кислякова Т.В. АКТИВНОСТЬ</b> .....	95
ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФОРМ МАО В	

---

ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И ПЕЧЕНИ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ В УСЛОВИЯХ АНТЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ	
<b>Миронов Н.Н., Порфирьев А.Г. ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА КСИМЕДОН НА</b> .....	99
РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЛАНАРИЙ DUGESIA TIGRINA	
<b>Осяпова Е.В., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н. ОСОБЕННОСТИ ЭВОЛЮЦИИ</b> .....	101
НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА	
<b>Павлий С.А., Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Кузнецова И.Е., Шихабудинов А.М.,</b> .....	103
Теплых А.А., Караваева О.А., Фомин А.С., Староверов С.А., Дыкман Л.А., Игнатов О.В. ЭЛЕКТРОАКУСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИОФАГА M13K07 С КРОЛИЧИМИ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ	
<b>Панфилова Е.В., Терентюк Г.С., Ханадеев В.А., Чумаков Д.С., Генина Э.А.,</b> .....	107
Башкатов А.Н., Тучин В.В., Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н., Хлебцов Н.Г., Хлебцов Б.Н. НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ AU НАНОСТЕРЖНЕЙ И ГЕМАТОПОРФИРИНА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ И ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ IN VIVO	
<b>Рыжкова Д.А., Гришина О.В., Гарусова Е.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ</b> .....	108
СОСТАВА ЖЕВАТЕЛЬНОЙ РЕЗИНКИ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ СЛЮНЫ	
<b>Семенова Е.А., Фаттахова А.Н. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА MAOA</b> .....	112
НА АНТИСОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ	
<b>Соболь К.В., Коротков С.М. ИНОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО</b> .....	114
ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРОДУКТА НА СОКРАЩЕНИЕ МИОКАРДА. СРАВНЕНИЕ С ЭФФЕКТАМИ ДИАЗОКСИДА	
<b>Степанова А.В. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЛИШАЙНИКОВ</b> .....	115
<b>Тимофеев В.И., Чупова Л.А., Есипов Р.С., Куранова И.П. ИССЛЕДОВАНИЕ</b> .....	120
КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ФОСФОПАНТЕТЕИН АДЕНИЛИЛТРАНСФЕРАЗЫ ИЗ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS СОДЕРЖАЩЕЙ ПОЛНЫЙ ГЕКСАМЕР В НЕЗАВИСИМОЙ ЧАСТИ ЭЛЕМЕНТАРНОЙ ЯЧЕЙКИ	
<b>Тимофеев В.И., Жухлистова Н.Е., Абрамчик Ю.А., Муравьева Т.И.,</b> .....	122
Ярославцева А.К., Степаненко В.Н., Есипов Р.С., Куранова И.П. КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФОСФОРИБОЗИЛПИРОФОСФАТСИНТЕТАЗЫ E. COLI	
<b>Фокина Н.Н., Немова Н.Н. ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ</b> .....	124
НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА И БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА У MYTILUS EDULIS L. В ОТВЕТ НА КРАТКОСРОЧНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ	
<b>Чернышев Ю.И., Плеханов А.Ю., Руденко Е.Д., Ключева Н.З. ИЗМЕНЕНИЯ</b> .....	128
СУТОЧНОЙ РИТМИКИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ НА ФОНЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ	

НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКЕ	
<b>Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л. ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ</b> .....	132
МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ БЛОКАТОРА SH-ГРУПП	
<b>Шевченко В.Д., Бондарь О.В., Штырлин Ю.Г., Абдуллин Т.И.</b> .....	135
ПРИМЕНЕНИЕ ТРИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЛОКСОПОЛИМЕРОВ ЭТИЛЕН- И ПРОПИЛЕНОКСИДА ДЛЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ДОСТАВКИ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК, КОДИРУЮЩЕЙ VEGF	
<b>Щелик И.С., Буданова У.А., Магасумова А.И., Гостенин В.Б., Себякин Ю.</b> .....	137
Л. ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАЗВЕТВЛЁННЫХ НЕОГЛИКОКОНЪЮГАТОВ С ЛЕКТИНОМ RCA-1	
<b>Якушина В Д., Васильева О.А. ЭКСПРЕССИЯ МРНК ГАЛЕКТИНА-1 ПРИ</b> .....	138
РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ	
<b>Nevrova O.V., Gerasimov N.Yu., Goloshchapov A.N., Kasparov V.V., Kovarskii</b> .....	142
A.L., Burlakova E.B. STUDYING THE EFFECT OF PERSPECTIVE NEUROPROTECTORS ON MICROVISCOSITY OF MICE BRAIN SYNAPTOSOMAL MEMBRANES IN VIVO	

# **Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологии**

IV Международная научная Интернет-конференция

*Казань, 18-19 ноября 2014 года.*

## **Материалы конференции**

Подписано в печать 15.12.2014.

Составитель ИП Синяев Д.Н.

Бумага офсетная. Печать ризографическая.

Формат 60x84<sup>1/16</sup>. Гарнитура «Times New Roman».

Печатных листов 8.6. Тираж 80 экз. Заказ 445.

Отпечатано с готового оригинала-макета  
в типографии Альянс. ИП Зубков В.Л.  
тел. +7(843) 267-14-16, 510-97-57