



Казанский федеральный
УНИВЕРСИТЕТ

Сборник тезисов
международной конференции
Трансляционная медицина 2016

13-14 октября 2016 года

Казань, 2016

Казанский федеральный университет

Казань, Россия

совместно с RASA

Сборник тезисов

международной конференции

Трансляционная медицина 2016

13-14 октября 2016

Казань, 2016

ББК 5я43
Т65
УДК 61(08)

Конференция проведена в рамках реализации Программы
повышения конкурентоспособности КФУ
(приказ № 01-06/930)

председатель оргкомитета: А.П. Киясов

программный комитет: Р.Н. Хазипов, А.А. Ризванов,
О.А. Гусев, Р.И. Литвинов, В.В. Ерохин, Е.Е. Никольский.

локальный оргкомитет: Д.К. Нураглиев, Р.И. Файзуллин,
О.Н. Ильинская, Р.Ф. Гайфуллина, Р.Ф. Фахруллин,
Г.Ф. Ситдикова,

рабочая группа конференции: Ю.П. Захарова, Г.Р. Валеева,
М.Р. Мухтаров, А.В. Захаров, Т.В. Балтина, А.И. Колпаков,
Д.В. Самигуллин, Е.В. Майкова, Р.А. Курбанов

Материалы конференции частично опубликованы в специальном
выпуске журнала BioNanoScience (Springer):
Bionanoscience «Translational Medicine-2016»
<http://www.springer.com/engineering/circuits+%26+systems/journal/12668/PSE>

сайт конференции:
<http://translationalmedicine-conference.kpfu.ru/>

составление и вёрстка н.с. НИЛ Нейробиологии Захаров А.В.

ISBN 978-5-98946-187-5

© КФУ, 2016 г
© ООО «ИПК «Бриг», оформление, 2016

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИОНОВ Mn^{2+} С ФРАГМЕНТОМ БЕТА-АМИЛОИДА $A\beta_{13-23}$ МЕТОДОМ ЯМР

Абдрахманов Р.Ж.^а, Блохин Д.С.^а, Усачев К.С.^а, Каратаева Ф.Х.^б, Клочков В.В.^а

^а Институт физики КФУ, Казань

^б Химический институт им. А.М. Бутлерова КФУ, Казань

Abdrakhmanov.kfu@yandex.ru

В данной работе было рассмотрено связывание ионов Mn^{2+} с фрагментом бета-амилоидного пептида ($A\beta_{13-23}$). Возможный механизм агрегации $A\beta$ -пептида, связан с образованием мономерного комплекса металл-пептид, вызывающий конформационные изменения пептида [1]. Исследование взаимодействия $A\beta_{13-23}$ с ионом металла проводилось с помощью одномерных 1H и двумерных 1H - 1H методов ЯМР-спектроскопии.

Данные ЯМР, полученные на сегодняшний день, для $A\beta$ и для фрагментов утверждают, что пептид в водном растворе имеет неупорядоченное конформационное состояние, а в среде имитирующую биологическую мембрану принимает структуру в виде α -спирали [2]. Фрагмент $A\beta_{13-23}$ содержит предполагаемый центр агрегации [3]. Изучение $A\beta_{13-23}$ с ионами Mn^{2+} даст нам информацию о взаимодействии пептида $A\beta$ с ионами металлов.

Постепенное добавление соли марганца к $A\beta_{13-23}$ вызывает селективное и прогрессирующее уширение линий ЯМР-сигналов, а также наблюдается увеличение времени релаксации протонов, что позволяет отображать остатки, которые имеют неисчезающее дипольное или скалярное взаимодействие со спином электрона иона Mn^{2+} . Наиболее заметное исчезновение сигналов в двумерных спектрах, при больших концентрациях ионов Mn^{2+} , наблюдалось в NH-области аминокислотного остатка аспартата D23. Это может быть вызвано экранированием аспартата ионом марганца вследствие близкого расположения иона и аспартата друг к другу.

Из полученных данных, можно предположить, что C-концевая часть пептида $A\beta_{13-23}$ участвует в связывании с ионами Mn^{2+} в присутствии аминокислотного остатка аспартата

1. Gaggelli E., Janicka-Klos A., Jankowska E., Kozlowski H., Migliorini C., Molteni E. (2008). NMR Studies of the Zn^{2+} Interactions with Rat and Human β -Amyloid (1-28) Peptides in Water-Micelle Environment J. Phys. Chem. B, 112, 100-109.
2. Coles, M., Bicknell, W., Watson, A. A., Fairlie, D. P., and Craik, D. J. (1998). Solution structure of amyloid β -peptide (1-40) in a water-micelle environment. Is the membrane-spanning domain where we think it is? Biochemistry 37, 11064-11077.
3. Usachev, K.S., Filippov, A.V., Filippova, E.A., Antzutkin, O.N., Klochkov, V.V. (2013) Journal of Molecular Structure, 1049, 436-440.

Материалы доклада опубликованы в Bionanoscience Topic Issue "Translational Medicine-2016" Abdrakhmanov R., Blokhin D., Usachev K., Karataeva F., Klochkov V. (2016) NMR Studies of the Mn^{2+} Interactions with Amyloid Peptide $A\beta_{13-23}$ in Water Environment. BioNanoScience, doi 10.1007/s12668-016-0317-7

АНАЛИЗ МОБИЛЬНОСТИ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ

Анисимова Е.А., Бруслик Н.Л., Ахатова Д.Р., Исмагилова Р.К., Яруллина Д.Р.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
elizabeth-real@mail.ru

Необходимым критерием при отборе пробиотических штаммов является наличие у них устойчивости к антибиотикам. Однако важно не допустить включение в пробиотик штаммов, несущих мобильные гены устойчивости к антибиотикам, так как такие бактерии могут способствовать распространению лекарственной устойчивости внутри кишечной микрофлоры. Целью данной работы является выявление и характеристика генетических детерминант антибиотикорезистентности и оценка их мобильности у потенциально пробиотических штаммов лактобацилл.

Диско-диффузионным методом оценена устойчивость 34 штаммов лактобацилл, выделенных из кисломолочных продуктов, пробиотиков и фекалий человека, к клинически распространенным антибактериальным препаратам девяти различных классов. Обнаружена высокая устойчивость лактобацилл к ципрофлоксацину, ванкомицину и к аминогликозидам. У 1 штамма установлена резистентность к эритромицину (*Erm*) и у 5 штаммов - к тетрациклину (*Tet*). Поскольку гены устойчивости к *Erm* и *Tet* подвержены горизонтальному транспорту, в геномах устойчивых к данным антибиотикам бактерий с помощью секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК было проверено наличие 15 генов, кодирующих устойчивость к *Erm* и *Tet*. В геномной ДНК лактобацилл обнаружены гены *ermB* и ряд генов (*tetM*, *tetK*, *mefA*) - в плазмидной ДНК.

В работе также исследована возможность передачи генов AP от лактобацилл к условно-патогенным микроорганизмам. Установлено, что бактерии *Citrobacter freundii* способны приобретать ген устойчивости к Tet после электропорации плазмидной ДНК *L. fermentum* 5-1. С помощью метода «спаивания на мембране» было обнаружено приобретение устойчивости к Tet у бактерий *Acinetobacter baumannii* от *L. fermentum* HF-B1. Таким образом, мы показали, что данные штаммы лактобацилл являются непригодным для включения в пробиотические препараты, ввиду наличия потенциально мобильных генетических детерминант.

IN VITRO ТЕСТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Ахмадишина Р.А., Садриева Г.Р., Сабирзянова Л.Р., Кузнецова Е.В., Абдуллин Т.И.

Институт фундаментальной медицины и биологии, КФУ, Казань
kyrchak@mail.ru

Разработка и применение информативных методов анализа антиоксидантных свойств соединений является актуальной задачей биохимии, фармакологии и медицины. Антиоксидантная активность проявляется как способность соединений связывать или препятствовать образованию активных форм кислорода (АФК), прежде всего, свободных радикалов. Среди предложенных методов оценки антирадикальной активности наиболее популярным в настоящее время является DPPH-тест, основанный на спектрофотометрическом детектировании стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) ($\lambda_{\text{max}} = 517 \text{ nm}$).

Нами разработана методика оценки антиоксидантных свойств, основанная на реакции Фентона. Генерируемый в реакции Фентона гидроксил-радикал детектировали с использованием флуоресцентного индикатора дихлорофлуоресцеина диацетата (ДХФ-ДА) на микропланшетном анализаторе ($\lambda_{\text{ex}} = 488$, $\lambda_{\text{em}} = 535 \text{ nm}$). Установлено, что среди бивалентных металлов, участвующих в реакции Фентона, наиболее стабильный и выраженный флуоресцентный сигнал производят ионы кобальта. Оптимизированы условия образования гидроксил-радикала в реакции кобальта (II) с пероксидом водорода в различных условиях.

Для количественной оценки антиоксидантной активности соединений с помощью разработанного теста предложено определять полумаксимальные эффективные (ингибирующие) концентрации (EC_{50}) в стандартных условиях. Проведено сравнительное исследование активности модельных антиоксидантов с помощью разработанного флуоресцентного теста и DPPH-тест. Выявлена корреляция между результатами обоих тестов, однако предложенный тест характеризуется большей чувствительностью и в большей степени соответствует физиологическим условиям образования АФК.

1. G. Litwinienko, K. U. Ingold, J. Org. Chem., 2003, **68**, 3433-3438.
2. Jakubowski *et al.*, Cell Biology International, 2000, **24**, 757-760.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета и при поддержке гранта РФФИ №15-33-20914.

ОЦЕНКА РАЗДРАЖЕНИЯ КОЖИ У КРЫС С ПОМОЩЬЮ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛУОМЕТРИИ И МОНИТОРИНГА ОКСИГЕНАЦИИ

Данг Т.В.Ч.¹, Сираева З.Ю.^{1,2}, Ергешов А.А.¹, Салихова Т.И.¹, Лопухов Л.В.¹,
Абдуллин Т.И.¹

¹НИЛ «Биоактивные полимеры и пептиды», ИФМиБ,
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия
zsiraeva@yandex.ru

Общепринятым методом оценки раздражающего действия химических веществ и биоматериалов, контактирующих с кожей, является аппликационный метод с визуальным исследованием согласно [ГОСТ ISO 10993-10] и рекомендациями OECD. Актуальной задачей является разработка информационных методов для количественного анализа токсического влияния веществ на кожу. Целью работы явилось исследование применимости лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и мониторинга оксигенации для оценки химического раздражения кожу у крыс.

Исследование проводили на крысах породы Wistar. На четыре симметричные депилированные зоны дорзальной поверхности тела размером 2×2 см каждая апплицировали повязки, смоченные аликвотами тестируемых водных растворов: 0,9 % натрия хлорида, 1,0 % формальдегида и 10,0 % формальдегида. Контрольный раствор (0,9 % NaCl) не вызывал раздражения кожи. Местное раздражающее действие формальдегида вызывало быстрое, но обратимое увеличение микроциркуляции кожи при концентрации 1 % в течение первых дней наблюдения. При более высокой концентрации формальдегид (10 %) приводил к снижению микроциркуляции в 2,4 раза через 1 ч после аппликации с последующим постепенным увеличением к 48 ч.

Результаты показывают, что система ЛДФ и тканевой оксигенации позволяет на модели крысы выявлять раздражение кожи при действии химических агентов. Изменение микроциркуляции и оксигенации проявляется в течение первого часа после обработки, сохраняется в течение первых дней наблюдения и коррелирует с более поздним проявлением отека и эритемы. Таким образом, сигнал ЛДФ служит ранним диагностическим критерием раздражения кожи, что представляет интерес для выявления потенциальных кожных раздражителей.

Материалы доклада опубликованы в Bionanoscience Topic Issue "Translational Medicine-2016" Siraeva Z., Đặng T., Yergeshov A., Salikhova T., Lopukhov L., Abdullin T. (2016) Evaluation of skin irritation in rats using simultaneous laser Doppler flowmetry and oxygenation monitoring. BioNanoScience. DOI 10.1007/s12668-016-0242-9.

ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У БОЛЬНЫХ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

Н.А. Данилова², С.Р. Абдулхаков^{1,2}, Т.В. Григорьева¹, В.Б. Дубинкина³, В.В. Одинцова⁴, А.В. Павленко⁴, А.В. Тяхт⁴, А.Х. Одинцова⁵, Р.А. Абдулхаков²

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия
³Московский институт физики и технологии, Москва, Россия
⁴ФНКЦ Физико-химической медицины, Москва, Россия
⁵Республиканская клиническая больница МЗ РТ, Казань, Россия
daniлова.natalya.87@mail.ru

Изменения в составе кишечной микрофлоры играют ключевую роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). Целью нашего исследования было изучение количественных и качественных изменений в составе кишечной микрофлоры у больных с язвенным колитом (ЯК). В исследование был включен 21 пациент с ЯК (10 мужчин и 11 женщин, средний возраст пациентов 37,6 лет). Длительность заболевания составила от 1 года до 36 лет. Для анализа были использованы образцы кала у данных пациентов. Полногеномное секвенирование осуществлялось на платформе SOLiD 5500 W (Life Technologies, Foster City, CA, USA). Для таксономического профилирования метагеномов использовали MetaPhlan2. В качестве контроля был использован набор метагеномов от здоровых людей. Результаты: относительное содержание ДНК человека в собранных образцах было повышено, что является типичным для воспалительных заболеваний кишечника. Преобладающими были бактерии рода *Prevotella copri* и *stercora* у 6 пациентов, *Bacteroides eggerthii* и *vulgaris* у 3, *Eubacterium rectal* и *eligens* у 5, *Ruminococcus bromii* у 1 и *Faecalibacterium prausnitzii* у 2 пациентов. Для оценки микробиоты был использован индекс альфа-разнообразия, который прямо ассоциирован со здоровым клиническим статусом. Для контрольной группы он составил $2,76 \pm 0,41$, в группе больных с ЯК из 21 пациента у 10 пациентов, были выявлены отклонения данного индекса $2,6 \pm 0,5$. Статистический анализ с использованием теста Манна-Уитни показал, что из 15 идентифицированных бактериальных видов: 2 вида бактерий родов *Ruminococcus gnavus* и *Bacteroides vulgatus* было значимо повышено, а 13 значимо понижены. Выводы: результаты анализа метагеномных данных у пациентов с ЯК, включающие оценку качества полученных данных секвенирования, оценку таксономического и функционального состава микробиоты, продемонстрировали значительные изменения по сравнению с образцами контрольной группы.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № RFMEFI57514X0075).

**БИОАКТИВНЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТРИКСЫ,
ДОПИРОВАННЫЕ ИОНАМИ ЦИНКА, ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ**
Ергешов А.А.¹, Льюнг Д.Т.¹, Садыкова Ф.Р.¹, Сираева З.Ю.^{1,2}, Абдуллин Т.И.¹
¹НИЛ «Биоактивные полимеры и пептиды», ИФМиБ, Казанский (Приволжский)
федеральный университет; ²Казанский государственный медицинский
университет abdulla.ergeshov@mail.ru

Для современной медицины предложено большое разнообразие коммерческих ранозаживляющих материалов, однако их существенным недостатком является низкая регенеративная активность и недостаточный терапевтический эффект на восстановление тканей кожи. Ранее нами были разработаны однокомпонентные матриксы на основе желатина. Актуальной задачей на данном этапе является усиление (модуляция) их биологической активности посредством комбинации с ионами активных металлов и микроэлементов.

Методом криополимеризации с контролируемым введением ионов цинка получены образцы композиционных матриксов на основе желатина. Регенеративную активность композиционного матрикса в сопоставлении с однокомпонентным исследовали на модели эксцизионной травмы кожи крыс [Ергешов с соавт., 2015].

Установлено, что применение однокомпонентного и композиционного матриксов приводит к уменьшению площади раны через 5 сут после травмы ~в 2 раза. По результатам микроскопического анализа криосрезов в обоих случаях выявлена послойная цитодифференцировка кератиноцитов, аналогичная эпидермису интактной кожи. Однако при равном регенеративном действии матриксов инфильтрация регенерирующей дермы лейкоцитами при наложении на рану матрикса с цинком была менее выражена по сравнению с однокомпонентным матриксом.

Таким образом, результаты показывают, что композиционный матрикс с цинком проявляет биологическую активность: 1) способствует регенерации дермы и реэпителизации, но в меньшей степени, чем однокомпонентный; 2) подавляет типичный для травм воспалительный процесс. Противовоспалительный эффект цинка в составе матрикса свидетельствует о возможности применения композиционного матрикса для лечения длительно незаживающих (хронических) ран.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета и с участием ООО «Биомедтех КФУ».

МИОГЕННАЯ ТРИГГЕРНАЯ ЗОНА ТРАПЕЦИЕВИДНОЙ МЫШЦЫ МОЖЕТ ВЛИЯТЬ НА ТОНУС СРЕДНЕЙ МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ

Есин О.Р.¹, Есин Р.Г.^{1,2}, Хайруллин И.Х.¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Казанская государственная медицинская академия, Казань, Россия
olegesin@gmail.com

Миогенная боль (МБ) – лидирующий вид боли во всех возрастных группах. Причиной МБ является формирование в скелетной мышце миогенной триггерной зоны (МТЗ). Влияние МТЗ на тонус артерий является малоизученной областью физиологии. Задачей было определение влияния активных МТЗ трапециевидной мышцы (ТМ) на показатели кровотока средней мозговой артерии (СМА). Обследовано 279 пациентов, критерий включения – наличие активной МТЗ-ТМ в горизонтальной порции мышцы с обеих сторон. Критерий исключения: наличие гемодинамически значимых стенозов сонных артерий. Для выявления спазма СМА использовали индекс Линдегаарда (ИЛ). В норме величина ИЛ составляет $1,7 \pm 0,4$, при ангиоспазме ИЛ увеличивается: значения 2-3 – функциональный вазоспазм, выше 3 – выраженные нарушения. Проводилась визуализация внутренней сонной артерии (ВСА) и СМА в покое, регистрация показателей кровотока. На втором этапе проводилась прессура МТЗ-ТМ, регистрация показателей кровотока во время прессуры. Третий этап через 15 минут после прекращения прессуры. В последующем пациентам проводилось лечение МТЗ-ТМ. После полного устранения МТЗ вновь проводилось измерение ЛСК ВСА и СМА с расчетом ИЛ. У пациентов с активными МТЗ-ТМ в покое ИЛ достоверно выше нормальных значений, что свидетельствует о повышении тонуса СМА, ипсилатеральной МТЗ-ТМ. Активация МТЗ-ТМ с помощью прессуры ещё больше увеличивает ИЛ. После устранения МТЗ-ТМ показатели скорости кровотока и ИЛ возвращаются в диапазон нормальных значений. Эти факты могут служить подтверждением гипотезы о наличии мышечно-артериального рефлекса, который реализуется через симпатическую нервную систему. Активные МТЗ-ТМ могут вызывать рефлекторный спазм по меньшей мере средней мозговой артерии.

ПРИМЕНЕНИЕ МОДЕЛИ КОЖНОГО ЛОСКУТА У КРЫСЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА БИОАКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ

Закирова А.А., Салихова Т.И., Ергешов А.А., Муллин Р.И., Новиков Р.Г., Тюганкина Д.П., Данг Т.В.Ч., Сираева З.Ю., Абдуллин Т.И.

НИЛ «Биоактивные полимеры и пептиды», ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет; Республиканская клиническая больница, Казань
tabdulli@gmail.com

Дефекты кожного покрова при сочетаемых повреждениях требуют васкуляризированной кожной пластики. Наилучшие клинические результаты получают при использовании местных лоскутов, имеющих наиболее близкие характеристики с реципиентной зоной. Однако рендомизированный тип их кровоснабжения обуславливает снижение васкуляризации до 60%, что существенно ограничивает применение лоскутов с соотношением ширины к длине более чем 1:3. Перспективными препаратами для повышения приживаемости кожных лоскутов являются биологически активные пептиды синтетического и природного происхождения.

Цель работы – обоснование возможности применения модели кожного лоскута для оценки регенеративного потенциала биоактивных пептидов на примере разработанного ранее препарата криптического пептида из коллагена. Исследование проводили на белых крысах породы Wistar путем иссечения на дорзальной поверхности тела животных лоскута размером 1×7 см, внутридермальной инъекции препарата пептида (контроль – изотонический раствор) с последующим наложением узловых швов. Через 4 и 6 сут проводили анализ микроциркуляции и тканевой оксигенации методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), по окончании эксперимента (6 сут) – отбор тканевых образцов для гистологического анализа.

Результаты измерения площади некротизированных тканей лоскута показали, что криптический пептид снижает суммарную площадь зоны некроза приблизительно на 30%. Выраженное воспаление тканей лоскута и экссудация ран после введения препарата отсутствовали. Гистологически выявлено утолщение дермы и формирование в пределах лоскута разветвленной сети сосудов разного диаметра, что коррелирует с данными ЛДФ. Результаты могут быть использованы для выявления и разработки биоактивных пептидов для биомедицинских приложений.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета и с участием ООО «Биомедтех КФУ».

СООТНЕСЕНИЕ СИГНАЛОВ И МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ БЫЧЬЕГО ИНСУЛИНА ПО ДАННЫМ ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ

Згадзай Ю.О., Ефимов С.В., Ключков В.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
yurchubuk@yandex.ru

В природе существует несколько природных разновидностей гормона инсулина, а также разработано большое число мутантных форм, которые активно используются в фармакологии в настоящее время. Человеческий инсулин является незаменимым лекарством для больных сахарным диабетом, однако его действие прекращается довольно быстро, поэтому необходимо исследовать другие разновидности инсулинов с целью создания новых лекарственных препаратов. Для осуществления данной задачи необходимо знать структуру и динамику соединения в растворе, в условиях, приближенном к человеческим. Наилучшим методом для этих целей является спектроскопия ЯМР высокого разрешения.

В качестве объекта исследования был выбран бычий инсулин. Для соотнесения сигналов использовались двумерные гомоядерные эксперименты TOCSY, NOESY, а также гетероядерные спектры HSQC. Спектры были зарегистрированы на спектрометре BRUKER Avance III 700; температура образца составляла 20 и 35°C.

В спектрах ЯЭО наблюдаются кросс-пики не только между протонами NH–Ha соседних групп, но также через несколько аминокислот, что является признаком формирования спиральной структуры. Таким образом было установлено наличие 3 спиралей: двух в А-цепи и одной в Б-цепи. Также из анализа распределения химических сдвигов было сделано предположение о наличии β-складки в Б-цепи с 24 по 27 остаток. Данный факт может означать наличие олигомеров в растворе.

Для подтверждения этого факта был зарегистрирован спектр DOSY, по данным которого были вычислены время жизни и характерные размеры молекулы.

Коэффициент диффузии для инсулина составил $D_{bi} = 9,7 \cdot 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$, а для ДСС – $D_{DSS} = 4,47 \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$. Такое значение коэффициентов диффузии позволяет предполагать наличие олигомерных форм, однако полученные размеры не дают четкой информации об их наличии. Для точного установления олигомерных форм были зарегистрированы спектры NOESY при различной концентрации белка. Уменьшение концентрации вызвало уменьшение времени корреляции с 2,3 до 1,9 нс, что в совокупности с другими данными является дополнительным подтверждением олигомеризации инсулина.

РАЗРАБОТКА КОМПОЗИЦИОННЫХ МИЦЕЛЛ МЕТИЛПРЕДНИЗОЛОНА С АМФИФИЛЬНЫМИ СОПОЛИМЕРАМИ

Камалов М.И., Данг Т.В.Ч., Лыонг Т.З., Абдуллин Т.И.
Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань
kamalovmi@gmail.com

Глюкокортикостероиды широко используют для лечения спектра заболеваний благодаря их модулирующему влиянию на обмен веществ и иммунную систему, противовоспалительному и противоотечному действию [1]. Метилпреднизолон (МП) является единственным разрешенным в клинической практике препаратом для лечения острой травмы спинного мозга, однако в повышенных дозах МП обладает серьезными побочными эффектами [2]. Актуальной задачей является разработка новых фармацевтических форм МП и других кортикостероидов, обладающих улучшенными фармакокинетическими свойствами и пониженной токсичностью.

Целью работы явилась разработка и исследование новой мицеллярной формы сукцината МП (МПС). Определены условия, при которых МПС образует самоформирующиеся мицеллы с амфифильными сополимерами этиленоксида (ЭО) и пропиленоксида (ПО). Формирование композиционных мицелл подтверждали методом динамического рассеяния света (ДРС). По данным ДРС гидродинамический диаметр мицелл для композиции три- и двифункционального сополимеров ЭО и ПО с МПС составил 16 и 30 нм соответственно. Полученные мицеллы характеризуются низким значением индекса полидисперсности (0.15) и высокой стабильностью при разбавлении. Биодоступность мицеллярной формы МПС оценивали *in vitro* с помощью МТТ-теста на клетках нейробластомы человека (SH-SY5Y) в нетоксичных концентрациях амфифильного полимера. Установлено, что по сравнению с исходным МПС его мицеллярная форма обладает большей цитотоксичностью, предположительно, вследствие её усиленной проникающей способности через клеточную мембрану. Результаты показывают, что разработанная мицеллярная форма МПС является перспективным препаратом, который может найти применение для лечения ряда заболеваний.

1. E.D. Hall, J. M. Braugher (1982) Surg Neurol 18(5): p. 320-7
2. M.I. Kamalov, I.A. Lavrov, A.A. Yergeshov, Z.Y. Siraeva, M.E. Baltin, A.A. Rizvanov, S.V. Kuznetcova, N.V. Petrova, I.N. Savina, T.I. Abdullin (2016) Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 140(1): p. 196-203.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-54-10059 и в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ И АНТИМУТАГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭКСТРАКТОВ ТРЕХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА AGAVACEAE

Карамова Н.С.¹, Гумерова С.К.¹, Гамал Осман Хассан¹, Иссам Абдул-Хафиз²,
Омер Х.М. Ибрагим², Мохамед А.А. Ораби², Ильинская О.Н.¹
¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
²Асьютский университет, Асьют, Египет
nskaramova@mail.ru

Окислительный стресс, возникающий при нарушении баланса между образованием активных форм кислорода и действием антиоксидантов, играет ключевую роль в развитии сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, онкологических заболеваний, а также старении организма. Вторичные метаболиты растений, обладающие антиоксидантным и антимутагенным эффектом, являются перспективными агентами для создания препаратов, которые могут быть использованы для профилактики и терапии различных заболеваний. Целью данной работы явилась оценка антиоксидантного и антимутагенного потенциала органических экстрактов трех растений семейства *Agavaceae*. Листья и корневища *Sansevieria cylindrica*, *Sansevieria trifasciata*, листья и клубни *Polygonum tuberosum* были собраны в разных регионах Египта весной 2016 г. Антиоксидантную активность определяли спектрофотометрическим методом с применением тиобарбитуровой кислоты. Антимутагенный эффект оценивался по ингибированию уровня мутагенеза, индуцированного азидом натрия в клетках *Salmonella typhimurium* TA100. Антиоксидантная активность экстрактов *S. cylindrica*, *S. trifasciata*, and *P. tuberosum* варьировала в пределах 9.7–51.5%, 19.7–47.3% и 19.6–53.3% соответственно. Экстракты корневищ *S. cylindrica*, *S. trifasciata* значительно снижали количество His⁺ ревертантов *S. typhimurium*, индуцированных азидом натрия. Наивысший антимутагенный эффект (76%) показан для экстракта корневищ *S. cylindrica*. Вывод: экстракты растений *S. cylindrica*, *S. trifasciata*, *P. tuberosum* являются потенциальными источниками соединений, обладающих антимутагенными и антиоксидантными свойствами.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета, при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-54-61024).

Материалы доклада опубликованы в *Bionanoscience Topic Issue "Translational Medicine-2016"* Karamova N, Gumerova S., Hassan G, Abdul-Hafeez E, Ibrahim O, Orabi M, Ilinskaya O (2016) Antioxidant and antimutagenic potential of extracts of some Agavaceae family plants. *BioNanoScience*, doi 10.1007/s12668-016-0286-x.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПОЗИЦИОННЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ЖЕЛАТИНА И ЦИНКА

Льонг Т.З., Ергешов А.А., Садыкова Ф.Р., Абдуллин Т.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
luongthajduong@gmail.com

Разработка высокоэффективных биоматериалов для лечения ран и ожогов является актуальной задачей для современной медицины и фармацевтики. Важной структурной основой биоматериалов являются белки внеклеточного матрикса – коллагены и желатины благодаря их биосовместимости. Ранее нами были разработаны макропористые гидрогели на основе желатина с улучшенными биологическими свойствами. Актуальной проблемой является разработка композиционных композиционных гидрогелей, содержащих микроэлементы, которые стимулируют регенерацию тканей и проявляют антимикробный эффект.

Получены экспериментальные образцы криогеля посредством химической сшивки желатина в условиях криополимеризации. Предложен подход по контролируемому и стабильному введению соединений цинка в состав криогеля на основе желатина с получением композиционного криогеля.

Структуру криогелей после лиофильной сушки анализировали методом SEM. Однокомпонентный криогель имеет макропористое строение с тонкими стенками, а композиционный криогель с цинком имеют меньшую пористость и утолщенные стенки. Результаты элементного анализа подтвердили присутствие цинка в криогелях. Методом LSCM исследована структура криогелей в гидратированном состоянии. Установлено, что криогели с цинком имеют однородную ячеистую структуру. С повышением содержания цинка, плотность стенок криогеля повышается, а размеры пор уменьшаются. Степень гидратации криогелей на основе желатина составляет от 8700 до 7600 %, что существенно превосходит степень гидратации обычных гидрогелей. Содержание воды в порах криогеля составляет более 90 % объема биоматериала. Вязкоупругие свойства криогелей исследованы методом ротационной реометрии. Введение ионов цинка повышает модуль упругости криогелей и их устойчивость к деформации. Результаты будут использованы для оптимизации структуры и характеристик содержащих цинк композиционных криогелей в качестве потенциальных биоматериалов.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета с участием ООО «Биомедтех КФУ».

ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТА С РЕДКОЙ ФОРМОЙ ПЛЕКТИНОПАТИИ: ОТ КЛИНИКИ К МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ОБРАТНО

Мавликеев М.О.¹, Бардаков С.Н.², Федотов В.П.³, Умаханова З.Р.⁴,
Гамзатгаджиев А.М.⁴,
Исаев А.А.⁵, Деев Р.В.^{1,5,6}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия,

³БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница №1», Воронеж, Россия

⁴Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала, Россия

⁵Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия

⁶Рязанский государственный медицинский университет, Рязань, Россия
MOMavlikeev@kpfu.ru

Плектинопатии относятся к орфанным заболеваниям, вызываемым мутациями в гене плектина. Плектинопатии отличаются полиморфизмом симптомов с преимущественным поражением кожи и скелетных мышц. Нами описан пациент с поясно-конечностной мышечной дистрофией тип 2Q (ПКМД2Q), у которого обнаружена новая гомозиготная мутация в гене PLEC, изоформа 1f. У пациента был взят биоптат латеральной бедренной мышцы. Цель исследования – патогистологический анализ биоптата скелетной мышцы пациента с ПКМД2Q. В качестве контроля была взята икроножная мышца здорового человека.

На срезах, окрашенных ГЭ, обнаруживались мышечные волокна (МВ) различной формы и размеров (межквартильный размах площади поперечного сечения МВ – 2430,2 против 788,3 мкм² в контроле). При этом обнаруживались многочисленные мышечные трубочки (МТ) (39,37±7,76%, в норме – единичные на срез), лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации не обнаружено. Окрасивание по Маллори выявило умеренный эндомизиальный фиброз (17,58±0,01% против 1,64±0,38% в контроле). Выявлено неравномерное распределение десмина в МВ с его аккумуляцией по периферии, что указывает на дезорганизацию цитоскелета вследствие потери плектина. Обнаружены многочисленные пролиферирующие фибробласты, скопления по 5-6 МТ с PCNA+ ядрами, а также PCNA+ ядра на периферии МВ. Наблюдалось примерно равное содержание быстрых и медленных МВ в исследуемом биоптате (52,03% и 47,97% соответственно), при этом по данным М.А. Johnson et al., 1973 в норме их 67.3% и 37.8% соответственно. Обнаруживались многочисленные Myf5+ ядра в МТ и единственное МВ с myogenin+ ядрами, что свидетельствует об активированном, но незавершенном рабдомиогенезе.

АНАЛИЗ КОРТИКОСТЕРОИДОВ МЕТОДАМИ ВЭЖХ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Петрова Н.В.^{а,b}, Данг Т.В.Ч.^а, Камалов М.И.^а, Лайков А.В.^а, Абдуллин Т.И.^а
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия
Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань, Россия
npetrova@inbox.ru

В медицинской практике на сегодняшний день широко используются синтетические кортикостероидные препараты. Их действие направлено, в частности, на подавление воспалительного процесса, отека тканей и облегчение боли. По свойствам и действию синтетические препараты сходны с природными аналогами, но обладают более высокой активностью и вызывают меньше побочных явлений, чем природные. К синтетическим кортикостероидным препаратам относятся дексаметазон, преднизолон, метилпреднизолон и др. Метилпреднизолон (МП) широко используется в качестве противовоспалительного агента. В сравнении преднизолоном МП обладает меньшей минералокортикоидной активностью и сопутствующими побочными эффектами, что делает его применение предпочтительным.

Нами исследована возможность применения для количественного определения проникшего в клетки метилпреднизолона высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с обращенной фазой сопряженной в одном случае с UV-детектором и в другом - с масс-спектрометром в качестве масс-анализатора и детектора (LS-MS/MS). Была отработана методика выделения МП из клеток, выращенных *in vitro*, и обработанных препаратом метилпреднизолона. ВЭЖХ система с UV-детектором позволила подобрать условия оптимального выхода МП из хроматографической системы с использованием стандартных растворов МП с известными концентрациями. Однако для анализа количества МП, проникшего в клетки, в ряде случаев UV-детектирование было недостаточно чувствительным. Использование масс-спектрометра позволило уловить низкие концентрации целевого вещества в пробе (в диапазоне 10-600 нг/мл). Таким образом, была опробована LS-MS/MS система для анализа содержания МП в клетках после экстраклеточного добавления препарата. Результаты будут использованы для определения содержания МП в органах и тканях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-54-10059 и в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета.

НАРУШЕНИЯ КОНТРАКЦИИ СГУСТКОВ КРОВИ ПРИ ОСТРОМ ВЕНОЗНОМ ТРОМБОЗЕ

А.Д. Пешкова¹, Д. В. Мальясев², Р. А. Бредихин², Ле Минь Жанг¹, Р. И. Литвинов^{1,3}
¹OpenLab «Белково-клеточные взаимодействия» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия; ²Межрегиональный клинико-диагностический центр, Казань, Россия; ³Пенсильванский университет, Филадельфия, Пенсильвания, США
alinapeshkova@list.ru

Тромбоз глубоких вен (ТГВ) нижних конечностей является одной из наиболее распространенных сердечно-сосудистых заболеваний и встречается с частотой 1 случай на 1000 человек. Одной из наименее изученных реакций свертывания крови и тромбообразования является спонтанное сжатие, или контракция, кровяного сгустка. Целью данной работы является определение возможной патогенетической и клинической роли контракции сгустка крови и её нарушений при ТГВ.

Для изучения кинетики контракции кровяных сгустков *in vitro* нами разработан новый аппаратный метод, который позволяет определить лаг-период, степень и скорость сжатия сгустка, образованного в цельной цитратной крови под действием тромбина в присутствии ионов кальция. В основную группу были включены 25 пациентов с ТГВ, а в контрольную - 80 условно здоровых доноров. Средний возраст пациентов составлял 64,7±13,9 лет и соответствовал возрасту контрольной группы (65±11 лет). Все исследуемые пациенты¹ имели неспровоцированный тромбоз. У 9 (36%) пациентов ТГВ был осложнен тромбозом болей легочной артерии (ТЭЛА).

Установлено, что контракция сгустков в крови пациентов с ТГВ достоверно снижена по сравнению с контролем по всем параметрам. При ТГВ наблюдалось снижение средней конечной степени контракции сгустка до 33,3±2,2% при норме 51,5±0,6%, средняя скорость контракции была снижена до (27,0±0,2)*10⁻³ %/сек при норме (41,0±0,5)*10⁻³ %/сек, лаг-период был удлинен до 199±17 сек. при норме при 74±5 сек. Важно, что у пациентов с ТГВ, осложненным тромбозом болей легочной артерии (ТЭЛА), степень контракции (30,1±4,1%) была достоверно меньше, чем при ТГВ без ТЭЛА (43,5±4,7%). Высокая степень корреляции параметров контракции сгустков с лабораторными показателями объясняет нарушения контракции при ТГВ с повышенным уровнем фибриногена, Д-димера, высоким гематокритом и другими изменениями состава крови, которые прямо или косвенно могут изменять сократительную функцию тромбоцитов и механические свойства сгустков крови.

Таким образом, контракция кровяного сгустка является новым, ранее не изученным патогенетическим механизмом, который может влиять на течение и исход венозных тромбозов. Кроме того, изучение контракции сгустков крови *in vitro* может быть новым диагностическим и прогностическим тестом при предтромботических состояниях, тромбозах и тромбозом болей.

Материалы доклада опубликованы в *Bionanoscience Topic Issue "Translational Medicine-2016"* A. D. Peshkova, D. V. Malyasev, R. A. Bredikhin, Le Minh Giang, R. I. Litvinov. (2016) *Contraction of blood clots is impaired in deep vein thrombosis*. *BioNanoScience*, doi:10.1007/s12668-016-0251-8

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСУКЦИНИМИДА И ПОЛИАСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ С РАЗНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ

Салахиева Д.В.¹, Гумерова Д.Р.¹, Ахмадишина Р.А.¹, Камалов М.И.¹, Низамов И.С.¹, Абдуллин Т.И.¹, Немет Ч.², Силаджи А.²

¹НИЛ «Биоактивные полимеры и пептиды», ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Будапештский университет технологии и экономики, Будапешт, Венгрия
divitsai@gmail.com

Синтетические аминокислотные поликарбонаты являются перспективными материалами в ряде промышленных, сельскохозяйственных, медицинских и фармацевтических применений. Гомопептид полиаспарагиновая кислота (ПАСП) сочетает в себе низкую токсичность и способность к биологическому разложению. Оценены потенциальные антирадикальные свойства ПАСП и полисукцинимид (ПСИ) с различной молекулярной массой, а также их цитотоксическая активность. ПСИ синтезировали путем термической поликонденсации L-аспарагиновой кислоты в присутствии фосфорной кислоты в атмосфере аргона, по времени 3 ч и 1.5 ч. Далее ПСИ гидролизали до получения соответствующих натриевых солей ПАСП. Молекулярная масса исследуемых полиаспарагиновых кислот, определенная методом статического рассеяния света, равна 3.9 и 8.3 кДа. Установлено, что среди исследуемых полисукцинимидов и полиаспарагиновых кислот только ПАСП с наибольшей молекулярной массой ингибирует образование гидроксильных радикалов в реакции Фентона. В то же время все изучаемые вещества не проявили способность элиминировать N,N-дифенил-N-пикрилгидразильный (ДФПГ) радикал. Полиаспарагиновые кислоты не проявляли токсичность (IC50 >> 3 мг/мл) для культур клеток мышинных фибробластов (NIH 3T3) и опухолевых клеток рака простаты (PC-3), в то время как полисукцинимиды снижали жизнеспособность клеток с различными значениями IC50 в зависимости от типа клеток и молекулярной массы полимера. Выявлена зависимость молекулярной массы и биологической активности полимеров на основе L-аспарагиновой кислоты, разработанных в качестве переносчиков лекарственных средств и биосовместимых материалов. Результаты могут быть использованы в разработке био- и наноматериалов на основе ПАСП.

Материалы доклада опубликованы в *Bionanoscience Topic Issue "Translational Medicine-2016"* Salakheva D, Gumerova D, Akhmadishina A, Kamalov M, Nizamov I, Nemeth C, Szilágyi A, Abdullin T (2016) Anti-Radical and Cytotoxic Activity of Polysuccinimide and Polyaspartic Acid of Different Molecular Weight. *BioNanoScience*, doi:10.1007/s12668-016-0230-0.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОК ЛИНИИ ATDC5 В ХОНДРОГЕННОМ НАПРАВЛЕНИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Салихова Т.И.¹, Сираева З.Ю.^{1,2}, Хозяинова С.А.¹, Ергешов А.А.¹, Абдуллин Т.И.¹

НИЛ «Биоактивные полимеры и пептиды», ИФМиБ, ¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия
taliya.salikhova@mail.ru

Перспективной *in vitro* моделью для изучения механизмов дифференцировки клеток в хондрогенном и остеогенном направлении является клеточная линия ATDC5 тератокарциномы мыши. Для индукции дифференцировки клеток ATDC5 в хондрогенном направлении используют дорогостоящий рекомбинантный инсулин, характеризующийся низкой стабильностью в условиях хранения и культивирования. Актуальной задачей клеточной биологии и фармакологии является поиск эффективных индукторов и оптимизация условий их применения для дифференцировки в хондрогенном направлении.

Нами исследовано влияние повышенных доз аскорбиновой кислоты на эффективность дифференцировки клеток ATDC5 (ATCC). В стандартную среду для культивирования DMEM/F12 (негативный контроль) добавляли через каждые 2 сут в течение 7 сут аскорбиновую кислоту в концентрации 50 мкг/мл. Клетки фиксировали водным раствором 4% *n*-формальдегида, окрашивали ализариновым красным С (1%, рН 4,3) и альциановым синим (1%, рН 2,5) и далее проводили цитологический анализ.

Установлено, что под действием аскорбиновой кислоты большая часть (~60%) клеточной популяции при культивировании приобретает фенотипические признаки, характерные для дифференцированных клеток (уменьшенные размеры, округлая форма). По сравнению с необработанными клетками более интенсивно окрашиваются ядро, ядрышки, элементы гранулярной ЭПС и аппарата Гольджи. В цитоплазме выявляется значительное количество секреторных вакуолей. Подобные признаки в совокупности свидетельствуют о дифференцировке клеток в хондрогенном направлении и активации синтезирующей активности клеток, типичной для более дифференцированных клеток.

Таким образом, по данным цитологического анализа аскорбиновая кислота в концентрации 50 мкг/мл эффективно индуцирует дифференцировку клеток тератокарциномы мыши (линия ATDC5) в хондрогенном направлении.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета.