

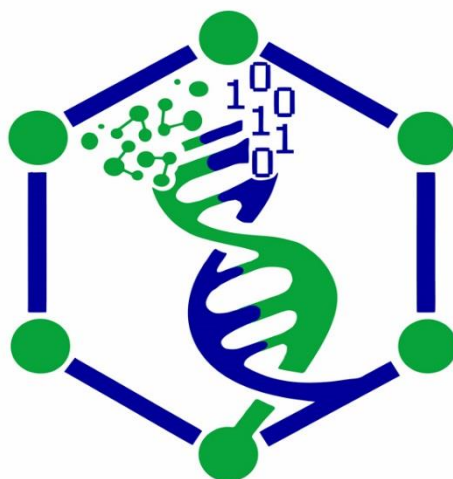
Министерство образования и науки Российской Федерации
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
Институт биологии и биомедицины



**«Биосистемы: организация, поведение, управление»
71-я Всероссийская с международным участием
школа-конференция молодых ученых**

Тезисы докладов

(Нижний Новгород, 17–20 апреля 2018 г.)

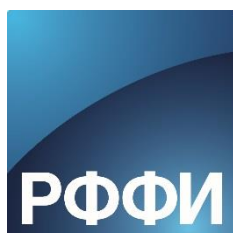


Нижний Новгород

2018

УДК 573.6(063); 61:004(063)
ББК Е.с21я431
Б 63

Б 63 Биосистемы: организация, поведение, управление: Тезисы докладов 71-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Н.Новгород, 17–20 апреля 2018 г.). Н.Новгород, Университет Лобачевского. 2018. 266 с.



Проведение школы-конференции поддержано Правительством Российской Федерации в рамках гранта для государственной поддержки научных исследований под руководством ведущих ученых (договор 14.Z50.31.0022) и Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 18-34-10005).

Тезисы докладов 71-й школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» охватывают широкий спектр направлений современной биологии: биоразнообразие, биомониторинг и биоиндикацию, физиологию растений и микроорганизмов, физиологию человека и животных, биомедицину, молекулярную биологию, нанобиотехнологии, биохимию, биофизику, нейротехнологии, историю биологии и биоэтику. Основной целью конференции является привлечение студентов и аспирантов к исследовательской и проектной деятельности в научно-технической сфере.

ББК Е.с21я431
УДК 573.6(063); 61:004(063)

© Нижегородский госуниверситет
им. Н.И. Лобачевского, 2018

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

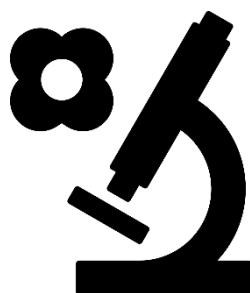
М.В. Ведунова председатель, и.о. директора ИББМ, д.б.н.
А.В. Дерюгина заместитель председателя, д.б.н.
И.В. Балалаева заместитель председателя, к.б.н.

М.Н. Агеева, А.П. Веселов (проф., д.б.н.), В.А. Воденеев (д.б.н.), А.А. Горохова, В.А. Зрянин (к.б.н.), В.Б. Казанцев (д.ф.-м.н.), А.И. Косова, М.М. Логинова, Е.О. Половинкина (к.б.н.), Ю.В. Сеницына (к.б.н.), М.Н. Таламанова (к.б.н.)

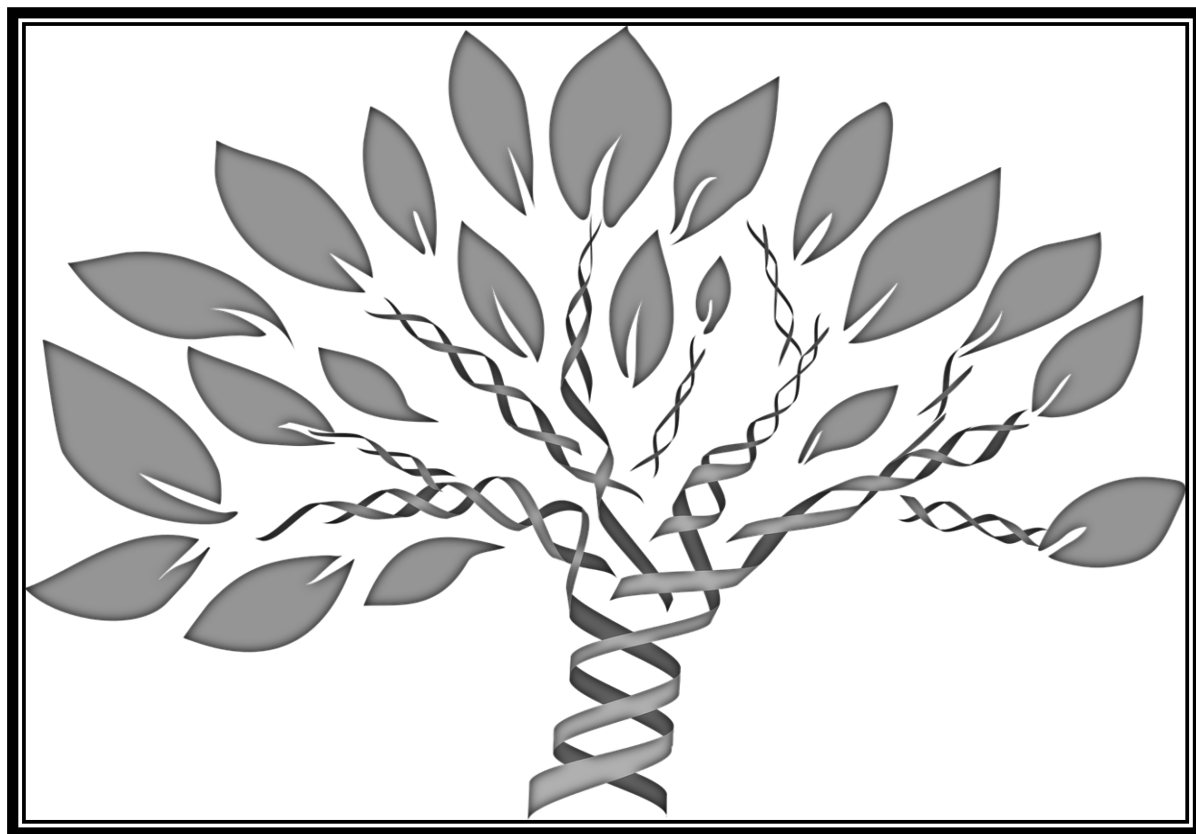
ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

М.В. Ведунова председатель, и.о. директора ИББМ, д.б.н.
А.П. Веселов заместитель председателя, проф., д.б.н.
В.А. Воденеев заместитель председателя, д.б.н.

Н.А. Белова (д.б.н., ПНЦ РАН), О.Л. Воскресенская (проф., д.б.н., МарГУ), Д.Б. Гелашвили (проф., д.б.н., ННГУ), С.В. Гудков (д.б.н., ИТЭБ РАН), А.В. Дерюгина (д.б.н., ННГУ), Е.В. Загайнова (д.м.н., НижГМА), В.А. Зрянин (к.б.н., ННГУ), В.Б. Казанцев (д.ф.-м.н., ННГУ), А.С. Лукаткин (проф., д.б.н., МГУ им. Н.П. Огарева), И.В. Мухина (д.б.н., НижГМА), В.В. Новиков (проф., д.б.н., ННГУ), А.Г. Охупкин (проф., д.б.н., ННГУ), В.В. Ревин (проф., д.б.н., МГУ им. Н.П. Огарева), Р.М. Сабиров (к.б.н., КФУ), А.В. Семьянов (чл.-корр. РАН, д.б.н., ННГУ), И.М. Швец (д.п.н., ННГУ), А.И. Широков (к.б.н., ННГУ)



ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ



ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ МЕЧЕНИЕ: ЧТО МОЖНО УВИДЕТЬ В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ?

К. А. Лукьянов

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Флуоресцентное мечение открывает широкие возможности для высокочувствительной (вплоть до единичных молекул!) специфической визуализации разнообразных структур и сигнальных процессов в живых системах. Для этого используются как химические флуорофоры, так и полностью генетически кодируемые флуоресцентные белки. На стыке этих подходов создаются методы сочетания белкового носителя и эндогенных или добавляемых извне флуорофоров.

Настоящим технологическим прорывом последних лет является флуоресцентная микроскопия сверхвысокого разрешения (наноскопия), которая позволяет преодолеть «дифракционный барьер» пространственного разрешения оптической микроскопии (около 200 нм) и получать изображения с разрешением 10–50 нм.

Особый интерес представляют методы прижизненной флуоресцентной визуализации, поскольку они позволяют видеть процессы в динамике, а также избегать артефактов воздействия фиксирующих агентов. Мультипараметрический анализ позволяет выявлять взаимосвязи различных процессов. При флуоресцентной микроскопии живых клеток ключевыми факторами становятся низкая токсичность и фототоксичность, а также скорость мечения. Эти проблемы решаются комплексно путем оптимизации яркости, флотабильности и спектральных свойств меток, а также разработки новых стратегий мечения.

В докладе я остановлюсь на последних разработках в области флуоресцентного мечения живых клеток, в том числе, на наших работах в этой области.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 14-25-00129).

РАСТЕНИЕ И ГРАВИТАЦИЯ

С. С. Медведев

Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург,
Университетская набережная, 7/9; *sergei.medvedev.spb@gmail.com*

Гравитация (от лат. *gravitas* – «тяжесть») является наиболее выраженным поляризованным внешним фактором, направление и величина которого практически не изменяется в течение всего филогенеза и онтогенеза растений. Поэтому процесс эволюции развивается на Земле при постоянном воздействии её гравитационного поля, а сила тяжести оказывала и оказывает влияние на формирование трехмерной структуры тела всех живых организмов.

Каждое растение способно «оценивать» свое положение относительно вектора силы тяжести и при необходимости корректировать его за счет поляризованного роста. Ключевой ответной реакцией растения на действие силы тяжести является *гравитропизм*, т.е. направленный рост органов относительно вектора гравитации. При изменении положения растения в пространстве только на несколько градусов или при воздействии на него силы тяжести порядка 10^{-3} – 10^{-4} g уже спустя 3–5 мин. регистрируются гравитропические изгибы. Благодаря гравитропическим изгибам восстанавливается нормальная ориентация роста побегов и корней при изменении их ориентации в пространстве. Актуальность анализа механизмов гравитропической реакции растений также заключается в том, что гравитропизм, в сочетании с фототропизмом и гидротропизмом, определяет оптимальное положение побега и корня в пространстве относительно солнечного света, источников воды и минеральных солей.

Для анализа механизмов пространственной регуляции процессов роста и развития растительного организма также могут быть также эффективно использованы условия орбитальных космических станций, когда сила тяжести близка к нулю и растения находятся в условиях микрогравитации. Не исключено, что эти условия, могут оказывать неблагоприятное воздействие на их развитие и продуктивность. Однако в условиях космического полета влияние микрогравитации на физиологию растительного организма не всегда удается выявить, поскольку растения одновременно находятся под влиянием других факторов (высокое содержание этилена, отсутствие конвекции, ограниченный объём, космическая радиация и др.).

Эффекты микрогравитации на Земле частично позволяет моделировать клиностати́рование, т.е. вращение растения вокруг горизонтальной оси (или нескольких осей, 3D), что дезориентирует изучаемый объект при нахождении в постоянном поле силы тяжести. Клиностати́рование позволяет имитировать невесомость в условиях Земли, поскольку клиностати́руемые растения лишены возможности корректно воспринимать гравитационный стимул, так как их положение постоянно меняется по отношению к вектору силы тяжести. Микрогравитация, моделируемая 3D-клиностати́рованием, является очень эффективным методологическим приёмом, позволяющим анализировать роль вектора силы тяжести в становлении структуры и координации функций растительного организма.

В докладе будут представлены результаты о влиянии гравистимуляции (путем поворота растений на 90°) и 3D-клиностати́рования на перестройки актиновых микрофиламентов и микротрубочек в клетках корней и гипокотилей арабидопсиса. Будут также представлены данные о влиянии 3D-клиностати́рования на метаболитные профили и протеом прорастающих семян рапса. Понимание механизмов ориентации растительных организмов относительно вектора силы тяжести позволит предложить эффективные технологии растениеводства и новые способы выращивания растений в условиях микрогравитации на орбитальных космических станциях и при длительных полетах человека в космосе.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04-00862.

РОЛЬ СЕРОТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ И ПСИХИАТРИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Е. Г. Понимаскин

Ганновская медицинская школа, 30625, Ганновер, Германия

Серотонин (5-гидрокситриптамин или 5-НТ) филогенетически является одним из старейших нейротрансмиттеров, а серотонинергическая система относится к числу наиболее рано развивающихся нейронных систем. Серотонин участвует в регулировании множества физиологических функций, действуя через гетерогенное семейство рецепторов, которое включает метаботропные рецепторы, связанные с G-белками, и лиганд-зависимые ионные каналы. Серотонинергические нейроны представляют собой широко распространенную и сложную сеть, которая охватывает почти все отделы мозга, но при этом передача информации, опосредованная серотонином, находится под строгим временным и пространственным контролем. Дисбаланс в серотонинергической передаче связан с многими патофизиологическими состояниями, в том числе шизофренией, болезнью Альцгеймера, депрессией и тревогой. Помимо хорошо исследованной роли нейротрансмиттера, серотонин участвует во многих аспектах развития нервной системы, включая рост нейритов, регуляцию соматической морфологии, подвижность конуса роста, синаптогенез, форму и плотность дендритных шипиков. Морфогенетическое действие серотонина регулируется в процессе развития, а наличие серотонина во время различных этапов развития чувствительности может вызывать формирование и функции поведенчески релевантных нейронных сетей на взрослых этапах.

В представленной работе рассмотрены молекулярные механизмы, ответственные за морфогенетическое действие серотонина, его связь с различными рецепторами на нейронах. Также обсуждена роль опосредованной серотонином морфогенетического действия в развитии и сохранении патофизиологических условий.

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД В ЭКОЛОГИИ: КОНСТРУКТИВНЫЕ РАЗМЫШЛЕНИЯ

Г. С. Розенберг

Институт экологии Волжского бассейна РАН, 445003, Тольятти Самарской области,
ул. Комзина, 10

В современной системологии существует разделение на простые и сложные свойства систем, на простые и сложные системы. Каждая система определяется некоторой *структурой* (элементы и взаимосвязи между ними) и *поведением* (изменение системы во времени). Для системологии они являются такими же фундаментальными понятиями, как пространство и время для физикализма (кстати, для последнего они являются изначально неопределяемыми [аксиоматическими] понятиями). Различают *неформальную структуру* системы (в качестве элементов которой фигурируют «первичные» элементы, вплоть до атомов) и *формальную структуру* (в качестве элементов фигурируют системы непосредственно нижестоящего иерархического уровня). Приводятся экологические примеры.

Сложность системы на «структурном уровне» задается числом ее элементов и связей между ними. Дать определение «сложности» в этом случае крайне трудно: исследователь сталкивается с так называемым «эффектом кучи» (один шар – не куча, два шара – не куча, три – не куча, а вот сто шаров – куча, девяносто девять – куча; так, где же граница между «кучей» и «не кучей?»). Кроме того, относительность понятия «структура» (деление на формальную и неформальную структуры) заставляет вообще отказаться от него при определении сложности системы. Определить, что такое «сложная система» на «поведенческом уровне» представляется более реалистичным. Предложено пять *принципов усложняющегося поведения систем*. Приводятся экологические примеры.

Концепция экосистем по Ю. Одуму является главенствующей в современной экологии – именно на изучении свойств структуры и динамики экосистем должны быть сконцентрированы усилия экологов. Проведен анализ ряда определений природных объектов, которые, по мнению исследователей, могут претендовать на роль основных изучаемых объектов в экологии (сообщество, биогеоценоз, экосистема).

Обсуждаются принципы системологии и даны экологические интерпретации:

принцип иерархической организации (или принцип интегративных уровней);

принцип несовместимости Лотфи Заде;

принцип контринтуитивного поведения Дж. Форрестера;

принцип множественности моделей В. В. Налимова;

принцип осуществимости Б. С. Флейшмана;

принцип формирования законов;

принцип рекуррентного объяснения;

принцип минимаксного построения моделей.

Любая естественнонаучная теория выполняет несколько функций, среди которых наиболее важными являются функции *объяснения* и *предсказания* наблюдаемых феноменов в исследуемом классе систем. При этом соотношение объяснения и прогнозирования при системном исследовании сложных экологических объектов практически всегда вызывает дискуссии и часто недопонимается экологами-практиками.

Наконец, дан подробный анализ проблемы соотношения редукционизма и холистизма в системной экологии.

РОЛЬ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РАСТЕНИЙ И ИХ ПАТОГЕНОВ

А. Г. Соловьев

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119992, Москва,
Ленинские горы, 1/40

Открытие РНК-интерференции – одно из самых заметных событий в биологической науке за последнюю четверть века. Многие принципы работы этой системы были открыты и охарактеризованы на модели растений. В частности, была показана ключевая роль системы РНК-интерференции в защите растений от патогенов, в первую очередь – от вирусов. Две основные ветви РНК-интерференции представлены транскрипционным и пост-транскрипционным сайленсингом. Первый является механизмом, который использует метилирование ДНК для контроля активности мобильных элементов генома, тогда как второй – механизмом контроля экспрессии генов с помощью микро-РНК (miRNA) и борьбы с вирусами с помощью малых интерферирующих РНК (siRNA). Двухцепочечные РНК, представляющие собой промежуточные продукты репликации вирусных РНК-геномов, являются мощным индуктором РНК-интерференции, а дочерние вирусные геномы – ее мишенью. Высокая эффективность антивирусного ответа с участием siRNA, способного полностью блокировать вирусную инфекцию, приводит к необходимости продукции вирусами белков, супрессирующих такой тип защитного ответа. Эти белки, в свою очередь, могут узнаваться системой врожденного иммунитета растения, подавляющей развитие вирусной инфекции. Подобная «гонка молекулярных вооружений» наблюдается во взаимодействии растений и с другими патогенами. В частности, ряд белков-эффекторов фитопатогенных бактерий и грибов, проникая в клетку бактерий, подавляет защитные ответы, основанные на miRNA, но могут узнаваться системой врожденного иммунитета. Помимо этого, новые данные показывают, что siRNA могут транспортироваться из клеток растений в клетки патогенных грибов, снижая экспрессию определенных генов и подавляя развитие инфекции. И наоборот, siRNA, продуцируемые в клетках патогенных грибов, могут транспортироваться в клетки растений, супрессируя экспрессию генов защитных белков.

Таким образом, система РНК-интерференции, наряду с другими защитными системами растений, определяет характер их взаимодействия с патогенами различной природы.

ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТЕЛОВЫЕ КЛЕТКИ: ОТ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ВОПРОСОВ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

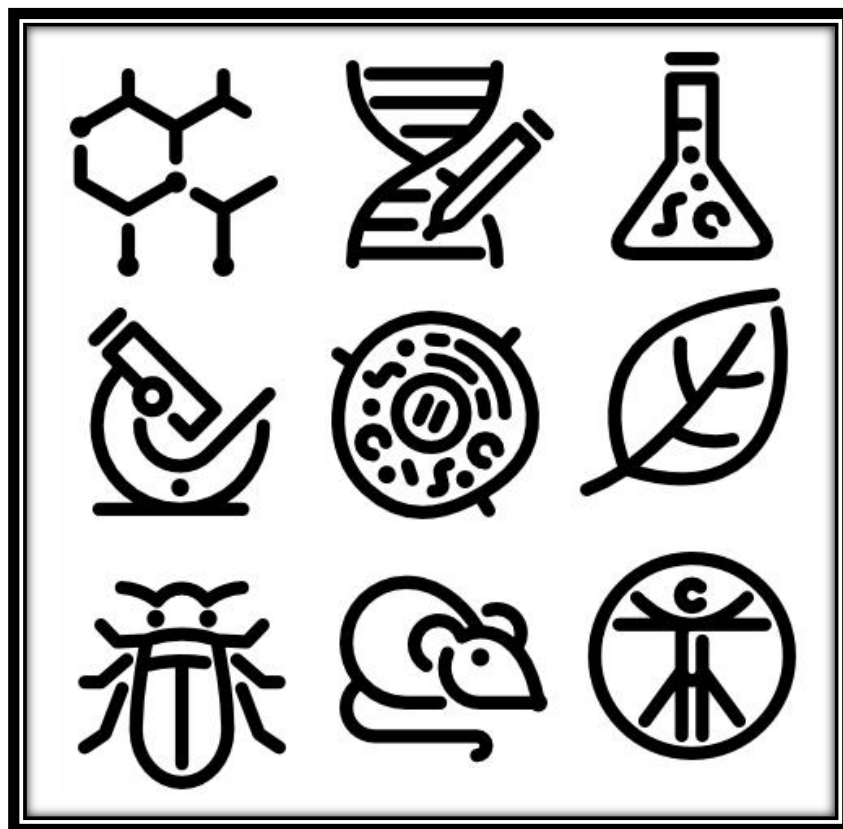
А. Н. Томили

Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4
Институт трансляционной биомедицины Санкт-Петербургского государственного университета, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9; a.tomilin@incras.ru

Плюрипотентные стволовые клетки, которым будет посвящен доклад, выдвинулись на передний край клеточной биологии и, возможно, всей биомедицины в связи с широчайшими возможностями применения этих клеток для моделирования заболеваний и тканезаместительной терапии у человека. Уникальной особенностью этих клеток является способность к самоподдержанию и дифференцировке во все клеточные типы тканей взрослого организма (за исключением двух внезародышевых клеточных типов – трофобласта и первичной энтодермы). В докладе будет освещена история развития данного направления биологии, приведены результаты современных достижений в области плюрипотентных стволовых клеток. Заметная доля этих исследований посвящена центральному регулятору клеточной плюрипотентности, POU-доменному белку Oct4, необходимому как для поддержания, так и для индукции клеточной плюрипотентности. В докладе будет затронута важная тема, касающаяся приложения фундаментальных знаний о плюрипотентных стволовых клетках в практической медицине.

Проекты, представленные в докладе, были поддержаны грантами РФФИ № 14-50-00068, 17-14-01407, РФФИ № 17-00-00324_КОМФИ.

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ



ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНИНОВ НА РАЗМНОЖЕНИЕ БЕЛЕНА ЕГИПЕТСКОЙ (*HYOSCYAMUS MUTICUS*) *IN VITRO*

В. М. А. Абделаиз

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Wallamohamed68@gmail.com

Белена египетская культивируется как источник получения алкалоидов. Основным алкалоидом является гиосциамин, что делает траву египетской белены ценным сырьем для получения атропина. Этот факт определяет наши попытки найти биотехнологические методы повышения эффективности размножения ценного растения в целях его сохранения.

Основная цель клонального микроразмножения – получить большое количество эксплантов, не зараженных микроорганизмами. Для успешного достижения этой цели необходимо соблюдать следующие условия: выбор экспланта, способа стерилизации и условий культивирования, которые включают уровень освещения, температуру, влажность воздуха, состав питательной среды и выбор экзогенных регуляторов роста.

В качестве эксплантов использовали стебли *Hyoscyamus muticus*, которые переносили на агаризованные среды Мурасиге-Скуга (МС), дополненные различными регуляторами роста. Для исследования регенерационного потенциала эксплантов использовали различные концентрации цитокининов: 6-бензиладенин (БА) и кинетин (КН) отдельно и в сочетании с N6-(2-изопентил) аденин (2iP). Изучали влияние БА и КН в концентрациях 1,0, 2,0 и 3,0 мг/л, сочетания: 1,0, 2,0 и 3,0 мг/л БА с 0,5 2iP мг/л и 1,0, 2,0 и 3,0 мг/л КН с 0,5 2iP мг/л. В качестве контроля использовали безгормональную среду МС. Через 4-5 недель инокуляции эксплантов на среде МС определяли коэффициент размножения и длину побегов.

Среда, содержащая только КН и КН в сочетании с 2iP оказалась самой эффективной для регенерации побегов культуры *H. muticus*. Экспланты, культивировавшиеся на среде МС, дополненной 1,0 мг/л КН, показали 100% регенерацию побегов; наибольшее количество пазушных побегов на эксплант составило в среднем, 8,20, а средняя длина пазушных побегов – 1,37 см. На среде МС с добавлением 2,0 мг/л КН, количество пазушных побегов на эксплант составило – 6,33, при средней длине пазушных побегов 1,11 см.

Наименьший процент выживших эксплантов, формирование эксплантом побегов, наименьшее количество пазушных побегов на эксплант (3,73; 2,17 и 0,90), а также средняя длина пазушных побегов 0,46, 0,32 и 0,20 см были получены на среде МС, дополненной различными концентрациями БА 1,0, 2,0 и 3,0 мг/л соответственно. Кроме того, среда МС, дополненная БА в сочетании с 2iP оказалась неэффективной для регенерации побегов эксплантов *H. muticus in vitro*, по сравнению со средой, дополненной КН, и в сочетании с 2iP. Наиболее благоприятной для введения в культуру *in vitro H. muticus* является питательная среда МС, дополненная КН в разных концентрациях. Вероятно, это вызвано тем, что потребность в цитокинине зависит от эндогенного содержания этих веществ в тканях, используемых для культивирования растений.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ *URTICA DIOICA* И *TARAXACUM SP.*

Р. Х. Абдуллина^{*}, О. А. Тимофеева, А. А. Мостякова, Г. И. Идрисова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
rayaabd@yandex.ru

В человеческом организме каждый день происходят множество биохимических реакций, организм часто подвержен различным стрессовым ситуациям. При нарушениях кислородного метаболизма возникает окислительный процесс. В таких случаях на помощь организму приходят биологически активные вещества (БАВ), в частности антиоксиданты. Антиоксиданты играют важную роль при поддержании функциональных свойств биомембран, клеточного деления, энергетических процессов. Они могут нейтрализовать окислительное действие свободных радикалов, образуя малоактивные радикалы, легко выводящиеся из организма. Поэтому одним из важных показателей качества лекарственного растительного сырья является их антиоксидантная активность.

Государственная Фармакопея XI разрешает применение листьев крапивы в качестве кровоостанавливающего, а корни одуванчика – желчегонного и возбуждающего аппетит средства. Сведения об антиоксидантной активности листьев крапивы и одуванчика, выращенных в условиях закрытого грунта, в литературе отсутствуют.

Цель данной работы – определение антиоксидантной активности растительного сырья двух видов лекарственных растений: крапивы двудомной (*Urtica dioica*) и одуванчика (*Taraxacum sp.*).

Антиоксидантная активность не может измеряться напрямую, обычно измеряют влияние антиоксидантов на степень окисления. Наличие антиоксидантной активности определяли по способности исследуемого лекарственного растительного сырья ингибировать аутоокисление адреналина в щелочной среде (Патент № 2144674, Т. В. Сирота).

Для исследования использовали свежие листья двухмесячного возраста крапивы и одуванчика, выращенные в лабораторных условиях. Листья взвешивали на аналитических весах марки Shinco НТ-220СЕ, имеющих I (специальный) класс точности. Навески растительного материала 0,2 г растирали в фарфоровой ступке с 95% этиловым спиртом (10 мл), центрифугировали при 1500 об/мин в течение 15 минут. Далее определяли значение D_1 . Для этого к 3,4 мл 0,2 М натрий-карбонатному буферу добавили 0,2 мл 0,1% аптечного раствора адреналина гидрохлорида и определили оптическую плотность через 30 сек в течение 10 мин при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм на спектрофотометре UNIKO-2800. Для измерения значения D_2 к 0,2 М натрий-карбонатному буферу добавили 0,5 мл экстракта крапивы (одуванчика) и 0,1% раствор адреналина. Далее анализируемую пробу поместили в спектрофотометр и измерили величину оптической плотности относительно пробы без адреналина.

Антиоксидантную активность (АА) исследуемых проб выражали в процентах ингибирования аутоокисления адреналина гидрохлорида по формуле: $AA = (D_1 - D_2) \cdot 100 / D_1$, %, где D_1 – это показатель экстинкции, ответственный за аутоокисление адреналина в данный момент времени; D_2 – показатель экстинкции, отражающий скорость ингибирования аутоокисления адреналина в присутствии исследуемого экстракта при t_{10} . Величина АА более 10% свидетельствует о наличии антиоксидантной активности. Все измерения проводили в трехкратной повторности.

В результате проведенных исследований выявлена высокая антиоксидантная активность листьев крапивы двудомной и одуванчика, выращенных в лабораторных условиях, в листьях крапивы она составила $70,15 \pm 1,39\%$, в листьях одуванчика – $77,90 \pm 0,67\%$. Стандартное квадратическое отклонение для крапивы – 2,42 и одуванчика – 1,16.

^{*} Здесь и далее подчеркнуты Ф.И.О. докладчиков в случае двух и более авторов.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СРЕДЫ НА ОЧИСТКУ БЕЛКА RBFA МЕТОДОМ АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

П. И. Авдеева

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
serpes22@gmail.com

Целью данной работы стало исследование рибосомального связывающего фактора RBFA патогенного микроорганизма *Staphylococcus aureus* – распространенного возбудителя заболеваний человека. RBFA является одним из главных белков холодового шока и присутствует в клетках в очень низких концентрациях в нормальных условиях роста. Однако уровень его экспрессии резко возрастает при холодовом шоке из-за повышения активности транскрипции *rbfA* мРНК, что приводит к многократному увеличению количества 30S-связанных субъединиц RBFA. Повышенные уровни RBFA в условиях холодового шока необходимы для преодоления трансляционного блока при пониженной температуре, по-видимому, путем ускорения созревания 30S-субъединиц. Он усиливает способность трансляции рибосом, способствуя их скорейшему созреванию, благодаря чему клетка в условиях резкого понижения температуры восстанавливает синтез клеточных белков и возобновляет рост.

В ходе исследования отработывалась методика выделения данного белка из клеток *Escherichia coli* BL21 (pLys) *rbfA*:pET28a, выращенных на богатой среде LB и минимальной среде M9. Очистка белка проводилась методом аффинной хроматографии в смоле Ni-NTA Superflow, с которой белок связывался His-концами, в дальнейшем отмывался имидазолом. Были отобраны фракции проскока для аналитического электрофореза в ПААГ и спектрофотометрии. Была показана эффективная экспрессия, выделение и очистка белка RBFA из клеток, выращенных на богатой среде LB, где белок выделился в большом количестве. На минимальной среде M9 выделить белок не удалось. После изменения конструктора белка, изменения положения His-tag, белок удалось выделить с богатой и минимальной сред. Следовательно, положение аффинной метки никак не влияло на очистку белка со среды LB. Однако очистка белка со среды M9 зависела от положения аффинной метки. Это позволило предположить, что условия для роста клеток влияют на активность экзопептидаз, гидролизующих His-конец, что не позволяло выделить белок с минимальной среды при определенном положении His-tag.

В настоящий момент продолжается отработка методики выделения данного белка для дальнейшего его изучения спектроскопией ядерно-магнитного резонанса.

СОЗДАНИЕ МОДЕЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ *NICOTIANA TABACUM* С ЭКСПРЕССИЕЙ рН-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО СЕНСОРА Pt-GFP

М. Н. Агеева¹, М. С. Назарова¹, Г. Н. Ралдугина², Д. В. Беляев², Т. А. Здобнова¹,
А. В. Юдинцев¹, В. А. Воденев¹, А. П. Веселов¹, А. А. Брилкина¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ageyevamaria@gmail.com

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276, Москва,
ул. Ботаническая, 35

Одним из важных компонентов генерации ответа на внешние воздействия, в том числе стрессовые, выступают ионы водорода. Для измерения рН и его изменений используют микроэлектроды и флуоресцентные низкомолекулярные красители. Существенный недостаток этих методов – инвазивное воздействие на клетку. Решением этой проблемы стало применение генетически кодируемых флуоресцентных сенсоров, позволяющих проводить исследования *in vivo* без дополнительных воздействий. Среди сенсоров, чувствительных к рН, белок Pt-GFP, выделенный из кораллового полипа морского пера *Ptilosarcus gurneyi*, отличается широким диапазоном чувствительности к рН и высокой кислотной стабильностью. Целью работы стало создание модельных растений *Nicotiana tabacum* с флуоресцентным рН-индикатором Pt-GFP.

В работе использовали растения табака *Nicotiana tabacum* сорта Samsun, которые кокультивировали с *Agrobacterium tumefaciens* штамма AGLO, несущей бинарную векторную систему pART27-ptGFP (NanoLight® Technologies, США) с селективным геном *nptII*. Эффективность трансформации оценивали методами ПЦР, флуориметрии, конфокальной микроскопии. Спектры возбуждения Pt-GFP в растениях получали в диапазоне 300-500 нм (при эмиссии 510), спектры флуоресценции – при 500-600 нм (при возбуждении 405, 488) на спектрофлуориметре Shimadzu RF-5301 PC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) с выносным блоком для детектирования флуоресценции твердых образцов «Лягушка» (ПКГ «Гранат», Россия). Локализацию Pt-GFP в клетках растений оценивали с помощью системы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии Частоту AxioObserver Z1 LSM 710 NLO/Duo (CarlZeiss, Германия). Полученные спектры флуоресценции и возбуждения растений сопоставляли со спектрами очищенного Pt-GFP (NanoLight® Technologies, США), полученными в тех же условиях. Кроме того, с помощью очищенного Pt-GFP была построена калибровочная кривая зависимости его флуоресценции от рН в диапазоне 4,5-8,0. Для определения сегрегации трансгена семена поколений T1 и T2 высаживали на агаризованные среды, содержащие 100 мг/л канамицина (Км).

Частота трансформации была очень высокой и составила 91,6%. Для 14 трансгенных линий с высоким уровнем экспрессии были получены семена T1. Согласно сегрегационному анализу поколения T1, все линии имеют расщепление 3:1, что говорит о наличии 1 копии трансгена в геноме у всех проанализированных линий. У растений T0 и T1 на спектре флуоресценции при возбуждении 405 нм и 488 нм наблюдали выраженный пик (508 нм), характерный для Pt-GFP. В дальнейшем из семян T2 всех трансгенных линий будет отобрана линия, подходящая для исследования изменений уровня рН в клетках табака при различных внешних воздействиях на растение.

ПОЛУЧЕНИЕ БЕЗМИКРОБНЫХ ЖИВОТНЫХ С ПОМОЩЬЮ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

А. Ю. Александрова, В. А. Новоселова, О. В. Яковлева, Д. Р. Яруллина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 4200008 Казань, ул. Кремлевская, 18;
anastasiaalle437@gmail.com

Обработка антибиотиками является одним из приемов получения лабораторных животных с измененной микробиотой для использования в экспериментах по изучению влияния кишечной микробиоты на поведение и различные физиологические функции организма. При этом антибиотики добавляют в воду, однако учитывая невысокую стабильность антибиотиков в растворах, данный подход не гарантирует их сохранность и поступление в активном виде в животных. Целью данной работы является разработка способа получения лабораторных мышей с угнетенной кишечной микробиотой с помощью внутрибрюшинных инъекций антибиотиков.

В работе использовали самцов мышей в возрасте 20–25 дней жизни, которых разделили на 2 группы. Животные опытной группы ($n = 10$) в течение двух недель с интервалом в один день получали внутрибрюшинные инъекции «коктейля» из антибиотиков, включающего ампициллин, ванкомицин, неомицин, метронидазол, амфотерицин В, в трех различных концентрациях. Животные контрольной группы ($n = 10$) в аналогичных условиях получали инъекции физиологического раствора. Методами классической микробиологии с помощью сред специального назначения оценили общую обсемененность образцов фекалий мышей аэробными и факультативно анаэробными бактериями, бифидобактериями, энтеробактериями, в т. ч. *Salmonella* sp. и *Shigella* sp., и молочнокислыми бактериями, в т. ч. лактобактериями. Для оценки общего состояния животных проводили их взвешивание и оценивали смертность.

Обработка мышей низкими концентрациями антибиотиков не оказывала значимого влияния на их кишечную микробиоту, а также смертность и вес животных. Выживаемость в контрольной группе составила 88,9%, а у мышей, получавших инъекции антибиотиков, – 100%. Изменение массы тела животных по сравнению с исходными значениями до начала эксперимента было $123,5 \pm 7,2\%$ в контрольной группе и $118,2 \pm 9,5\%$ у мышей, обработанных антибиотиками. Использование высоких и средних концентраций антибиотиков не приводило к достоверному снижению численности бактерий в фекалиях, но снижало биоразнообразие в исследуемых образцах, о чем свидетельствует увеличение относительного содержания отдельных групп бактерий. У мышей, получавших инъекции антибиотиков, снижалось количество лактозоположительных представителей семейства Enterobacteriaceae и увеличивалось количество лактозоотрицательных видов, что косвенно свидетельствует о развитии у них кишечных инфекций. Однако, инъекции высоких концентраций антибиотиков оказывали токсическое действие на животных – выживаемость в опытной группе составила 16,6%, тогда как в контрольной группе, не получавшей антибиотиков, она была 83,3%. Также у животных, обработанных антибиотиками, происходило снижение массы тела, тогда как в контрольной группе мышей прирост составил $165,0 \pm 1,3\%$ по сравнению с исходными значениями массы тела.

Таким образом, с помощью внутрибрюшинных инъекций «коктейля» из антибиотиков, включающего неомицин (1 мг/доза), ванкомицин (5 мг/доза), амфотерицин В (0,02 мг/доза), ампициллин (2 мг/доза), метронидазол (1 мг/доза), получены лабораторные мыши с угнетенной кишечной микробиотой для использования в экспериментах по исследованию взаимосвязи между микробиотой и функциями организма. Регистрируемые у полученных животных изменения в кишечной микробиоте соответствуют таковым, описанным в мировой литературе для подобных животных.

ВЛИЯНИЕ ЦИСПЛАТИНА И ПАКЛИТАКСЕЛА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Е. А. Алексеева, Л. Г. Тазетдинова, З. Е. Гилязиева, С. С. Архипова, Д. С. Чулпанова, В. В. Соловьева, А. А. Ризванов

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
alexeeva.kate96@gmail.com

Рак – вторая ведущая причина смерти в мире. Мезенхимальные стволовые клетки (Mesenchymal stem cells – MSC) обладают тропизмом в отношении опухолевых сайтов и могут быть использованы в качестве векторов для доставки противоопухолевых агентов. Целевая поставка противораковых препаратов с использованием MSC позволит повысить эффективность терапии и уменьшить побочные эффекты лекарств. Мы исследовали влияние цисплатина и паклитаксела на ультраструктуру человеческих жировых MSCs (Human Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells - hADSCs).

Неконттактные концентрации Cisplatin-Ebewe (CDDP) и Paclitaxel-Ebewe (PTX) были предварительно выбраны для загрузки в клетки MSC (DOI: 10.1007 / s12668-016-0283-0). Для электронной микроскопии hADSC загружали препаратами CDDP и PTX в течение 24 часов. Ультраструктура клеток hADSC была исследована с помощью просвечивающего электронного микроскопа Hitachi HT7700. Родные hADSC продемонстрировали ядро неправильной формы и цитоплазму, богатую различными органеллами. Плазменная мембрана образует выпячивания или небольшие псевдоподии небольшого размера. Инкубация hADSC с CDDP в концентрации 2,5 мкг/мл не приводила к существенным изменениям в ультраструктуре клеток. Сглаженный просвет ЭПР и большое количество активных комплексов Гольджи, а также многочисленные везикулы были обнаружены в клеточной цитоплазме, подобной необработанным клеткам. Инкубация hADSCs с PTX при нетоксичной концентрации (30 мкг/мл) приводила к значительному увеличению числа псевдоподий клеток. Цистерны гранулированного ЭПР стали округлой формы, а число аутофагических вакуолей в цитоплазме увеличивалось. В заключение было показано, что CDDP и PTX не влияют на hADSC при изученных концентрациях, и эти препараты могут использоваться для прайминга MSC для потенциального использования в целевой противораковой терапии.

Исследование поддерживается государственным назначением 20.5175.2017/6.7.

ВЛИЯНИЕ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА КАШТАНА КОНСКОГО ОБЫКНОВЕННОГО

Ю. С. Алябышева, Е. А. Алябышева

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
alyabysheva_1999@mail.ru

Каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum*) активно применяется в садово-парковом искусстве ввиду своей декоративности, морозостойкости и прекрасной адаптации к городским условиям. Кроме этого, одно взрослое дерево каштана конского обыкновенного очищает от поступающих выхлопных газов пространство объемом до 20 тыс. м³ (Лукаревская, 2007). Целью данной работы является изучение влияния условий произрастания на морфометрические и биохимические параметры листьев каштана конского обыкновенного (*A. hippocastanum*).

Исследования проводили в июле-августе 2017 года. Для исследования были выбраны следующие районы г. Йошкар-Олы: агробиостанция МарГУ, магазин «Дом Быта», парк им. XXX-летия ВЛКСМ, больница «ММЗ», магазин «Детский мир» и колледж культуры и искусств. С южной стороны нижней части кроны генеративных особей (по 5 шт. в каждом районе) на высоте 1 м отбирали по десять сложных листьев; измеряли следующие морфометрические показатели: длина (ДСЛСЛ) и ширина (ШСЛСЛ) среднего листочка сложного листа (см), длина черешка (ДЧ) (см) и площадь листовой пластинки (ПЛП) (см²). Определение свободной пролина проводили фотометрически (с нингидрином в присутствии сульфосалициловой кислоты; при 520 нм).

Морфологические особенности древесных растений являются достаточно информативными для определения стабильности их роста и степени изменения условий их произрастания. Как показали результаты наших исследований, в Йошкар-Оле наибольшие значения всех исследованных параметров были отмечены у особей *A. hippocastanum*, произрастающих в районе магазина «Дом Быта» (ДСЛСЛ = 26,9±0,46 см; ШСЛСЛ = 12,0±0,37 см; ДЧ = 21,5±0,85 см; ПЛП = 772,9±5,90 см²). А наименьшие, у особей *A. hippocastanum*, произрастающих в районе магазина «Детский мир» – в 1,2–1,4 раза меньше ($p=0,007–0,0001$). Таким образом, при увеличении уровня загрязнения атмосферы морфометрические параметры оставались стабильными. Нами было выявлена следующая тенденция – при увеличении уровня освещенности (магазин «Детский мир») все показатели уменьшались.

Наибольшая концентрация пролина была обнаружена в сложных листьях каштана конского обыкновенного, произрастающего в районе колледжа культуры и искусств (14,2±0,05 мг/г сырой массы) (средний уровень загрязнения). В ассимилирующих органах *A. hippocastanum* концентрация пролина в районе агробиостанции МарГУ была в 1,3, а больницы «ММЗ» – в 1,7 раза меньше. У растений, произрастающих в районе с низким уровнем загрязнения (магазин «Детский мир») концентрация пролина в листьях уменьшалась до 4,0±0,08 мг/г сырой массы. В листьях растений в парке им. XXX-летия ВЛКСМ синтезировалось небольшое количество пролина (2,7±0,04 мг/г сырой массы). Минимальное содержание пролина было обнаружено в листьях особей, произрастающих в районе магазина «Дом быта» (2,2±0,08 мг/г сырой массы) ($p=0,0001$).

Увеличение содержания пролина в листьях *A. hippocastanum* является адаптивной реакцией на стресс и способствует повышению устойчивости вида к аэрозагрязнению. Стресс-зависимая аккумуляция пролина, обладающего мультифункциональным защитным действием, является универсальной ответной реакцией растений на неблагоприятные изменения условий выращивания (Кузнецов, Шевнякова, 1999).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ КЛИНИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У УРОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ПАТОЛОГИЯМИ

А. Ю. Андреева¹, М. М. Кудрявцева¹, Г. П. Дробот¹, С. Н. Соломонов²

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
duyunda@gmail.com

²Йошкар-Олинская городская больница, 424005, Йошкар-Ола, ул. Карла Либкнехта, 55

Урологические заболевания являются одной из наиболее важных проблем современной медицины, что обусловлено стойкой тенденцией роста числа пациентов с заболеваниями мочеполовой системы, как во всем мире, так и в России. Урологические заболевания оказывают не только существенное влияние на состояние здоровья людей, но и являются одной из причин снижения качества жизни, повышения инвалидизации и увеличения смертности, что создает целый ряд проблем социального и экономического характера в обществе. Анализ показателей заболеваемости, в том числе урологической, является необходимым условием достижения высокого уровня здоровья населения, интенсивного развития здравоохранения, контроля за деятельностью лечебно-профилактических учреждений и управления ими. Результаты анализа урологической заболеваемости, в том числе в разрезе отдельных нозологических форм урологической патологии, являются важной информационной базой для осуществления планирования и организации урологической помощи в соответствии с современными требованиями управления.

В связи с этим цель настоящей работы заключалась в сравнение величин некоторых клинических и биохимических показателей крови и показателей мочи у больных с патологиями мочевого пузыря и предстательной железы.

Работа выполнена на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУ РМЭ «Йошкар-Олинская городская больница» и на кафедре биохимии, клеточной биологии и микробиологии Института Естественных наук и Фармации Марийского государственного университета. Объектом исследования служила кровь 228 урологических больных (наблюдения за 2014–2016 гг.) с патологиями мочевого пузыря и предстательной железы (рак и воспаление). У всех обследованных лиц изучали общий анализ мочи и крови, а также биохимические показатели работы почек: содержание мочевины (ммоль/л) и креатинина (мкмоль/л) в сыворотке крови. Исследования проводили на автоматизированных анализаторах Sapphire-400, Микролаб 600, URiSCAN Optima, Medonic M.

В ходе проведенных исследований у больных с патологиями предстательной железы различия не были обнаружены ни по годам поступления, ни по возрасту больных, ни по полу. У пациентов с раком мочевого пузыря выявлено, что мужчины, обследованные в 2016 г., и женщины, и мужчины среднего возраста (44–60 лет), поступившие в 2014 г., имеют высокие значения креатинина (117 и 148 мкмоль/л) – выше верхней допустимой границы физиологической нормы. По количеству лейкоцитов в моче наиболее высокие значения (более 40 лейкоцитов в поле зрения) отмечены у лиц среднего возраста, обследованных в 2016 г. Для пациентов с воспалением мочевого пузыря характерен очень высокий уровень СОЭ. Наибольших значений данный показатель (более 40 мм/час) достигает у больных, поступивших в больницу 2016 г. Кроме того у мужчин, обследовавшихся в 2014 и 2016 гг. обнаружен белок в моче. Высокие значения концентрации мочевины (12 ммоль/л) и креатинина (130 ммоль/л) в сыворотке крови установлены у мужчин и женщин старческого возраста (74–90 лет) поступивших в больницу 2015 г.

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ БЕЛКОВ ГРИБА *ASPERGILLUS TERREUS* ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (БИОЦИДОВ)

Н. А. Аникина, А. А. Яковлева, А. С. Викулова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
biodeg@mail.ru

Практически все материалы, как природного, так и искусственного происхождения, способны подвергаться биодеструкции, вызываемой различными микроорганизмами. Ведущая роль в биодegradации материалов различной химической природы принадлежит микроскопическим грибам. Основным методом защиты от биоразрушения является химический способ защиты, то есть введение биоцидов. Однако до сих пор подбор средств защиты в большинстве случаев носит эмпирический характер без использования научно-обоснованного подхода. Одним из направлений исследований для успешного решения данной проблемы является изучение влияния биоцидных соединений на метаболизм микроорганизмов, в частности микромицетов. Важнейшими свободнорадикальными процессами, занимающими центральное место в метаболизме клеток живых организмов, являются два взаимосвязанных процесса окисление липидов и белков. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют, что окисление белков является надежным и ранним маркером окислительных повреждений в условиях различных экстремальных воздействий, а соотношение результатов измерения содержащихся в исследованном образце продуктов спонтанной окислительной модификации белков (ОМБ) к индуцируемой позволяет косвенно оценить резервно-адаптационные возможности организма.

В качестве объекта исследований использовался гриб *Aspergillus terreus* Thom ВКМ F-1025, активный биодеструктор различных полимерных материалов. Культивирование проводилось на жидкой обедненной по углероду питательной среде Чапека-Докса (ОПС). Время экспозиции – 16 суток. Для исследований использовались биоциды Rosima 243 и Bionutral A 17, действующим началом которых являются октиллизотиазолон (ОИТ) и пиритион цинка, соответственно. Данные биоциды находят широкое применение для защиты промышленных материалов от биоповреждений, вызываемых микроскопическими грибами.

Биоциды вводились в среду на 4 сутки культивирования гриба. Оценка окислительной модификации осуществлялась по методу R. L. Levine, в модификации Дубининой Е. Е., основанном на реакции продуктов свободнорадикального окисления белков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ). Металл-катализируемая ОМБ определяется после инкубации исследуемого образца в среде Фентона, содержащей H_2O_2/Fe^{2+} .

Анализ полученных данных показал, что изменения содержания окисленных белков по спонтанному и индуцируемому ионами металлов механизму имеют одинаковую тенденцию, как при росте на ОПС, так и при росте на среде с добавлением биоцидов. Резервно-адаптационный потенциал гриба при культивировании на среде без биоцидов плавно возрастает к 16 суткам, что вероятно связано адаптацией культуры гриба *A. terreus* к условиям среды обитания. Однако на средах с добавлением биоцидов на 10 сутки культивирования отмечено снижение резервно-адаптационного потенциала (в случае биоцида Bionutral A 17 депрессия составила более 70%) с последующим его возрастанием к концу эксперимента. Стоит отметить, что к 16 суткам культивирования на средах, содержащих биоциды, резервно-адаптационный потенциал гриба *A. terreus* превышал аналогичное значение, полученное в эксперименте с использованием среды без биоцидов. Можно предположить, что данные биоциды, введенные в среду в сублетальных концентрациях, вызывают эустрессорную реакцию клеток гриба, увеличивающую адаптационные возможности последнего, а, следовательно, повышающую его устойчивость к воздействию различных факторов окружающей среды.

БАКТЕРИИ РОДА *LACTOBACILLUS* КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ДОНОРЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Е. А. Анисимова, Д. Р. Яруллина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
elizaveta-real@mail.ru

Бактерии рода *Lactobacillus* входят в состав естественной микробиоты кишечника человека, где выполняют ряд полезных для здоровья функций. Данная особенность обусловила их широкое применение в пробиотиках и продуктах функционального питания. Однако, используемые в пробиотикотерапии устойчивые к антибиотикам бактерии потенциально могут служить источником распространения генов антибиотикорезистентности (АР), если последние локализованы на конъюнктивных плаزمиде и транспозонах. Целью данной работы является характеристика профиля антибиотикорезистентности пробиотических штаммов *Lactobacillus*.

В работе использовали 34 штамма лактобацилл, выделенных нами из кисломолочных продуктов, коммерческих пробиотиков и фекалий людей. Идентификацию штаммов проводили с помощью MALDI Biotyper. Диско-диффузионным методом определили уровень устойчивости к 12 антибиотикам различной природы: β -лактамам, аминогликозидам, макролидам, клиндамицину, ванкомицину, рифампицину, ципрофлоксацину, тетрациклину и хлорамфениколу. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) антибиотиков для исследуемых бактерий определены с помощью микроразведений в 96-луночной планшете в диапазоне концентраций 0,12–256 мкг/мл. Геномную ДНК из бактерий выделяли фенол-хлороформным методом, плазмидную ДНК – методом щелочного лизиса. Гены АР амплифицировали с помощью ПЦР с использованием специфических праймеров.

Использованные в работе лактобациллы отнесены к видам *L. fermentum* (14 штаммов), *L. plantarum* (4 штамма) и *L. rhamnosus* (1 штамм), для остальных штаммов вид установлен предположительно, что может быть обусловлено отсутствием некоторых видов в базе данных прибора MALDI Biotyper. Показали, что среди исследованных лактобацилл широко распространена устойчивость к ванкомицину, ципрофлоксацину и аминогликозидам. У одного штамма обнаружена резистентность к эритромицину (Erm) и у пяти штаммов - к тетрациклину (Tet). Методом микроразведений установили, что рост устойчивых к Tet штаммов ингибируется при концентрации антибиотика 16–32 мкг/мл, а к Erm при 1 мкг/мл, что подтверждает наличие у данных микроорганизмов устойчивости к данным препаратам.

Поскольку гены резистентности к Erm и Tet часто подвержены горизонтальному транспорту, в геномах устойчивых к данным антибиотикам бактерий методом ПЦР проверили наличие 15 генов, кодирующих устойчивость к Erm и Tet. В геномной ДНК штамма *L. fermentum* 5-1 обнаружены гены *ermB* и *ermA*, а в плазмидной ДНК – гены *tetM*, *tetK*, *ermA*. Гены *tetM* и *tetK* так же были найдены в плазмидной ДНК у остальных устойчивых к Tet штаммов лактобацилл. Вместе с тем, у ряда штаммов, не проявляющих устойчивость к Erm, выявлены молчащие гены *ermA* и *ermC*.

У шести штаммов лактобацилл фенотипическая устойчивость к Tet и Erm подтверждена обнаружением соответствующих генетических детерминант, поэтому перед включением данных бактерий в биотехнологический процесс должен быть исследован их потенциальный вклад в распространение генов АР в микробиоме человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-34-00268 и гранта РФФИ 17-00-00456 в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

ТРЕХКАМЕРНЫЙ МИКРОФЛЮИДНЫЙ ЧИП КАК МОДЕЛЬ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

О. О. Антипова¹, Я. И. Пигарева¹, В. Н. Колпаков¹, А. А. Гладков^{1, 2}, А. С. Пимашкин¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

antipova@neuro.nnov.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603081, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 70

Регенерация повреждений является актуальной фундаментальной задачей в науке и медицине и мозга осложнена особенностями строения нервной системы. Для восстановления нормального функционирования после повреждения ведется поиск новых методов лечения. Перспективным направлением являются скаффолды, которые представляют каркас для прогениторных и стволовых клеток. Однако, структура сети клеток, интегрируемая с помощью скаффолдов, гомогенна, а при восстановлении повреждений в мозге важно обеспечить соответствие структуры подсаживаемого трансплантата расположению клеток и нейрональных связей в участке повреждений. Целью работы стало моделирование повреждения или ослабления нейрональных путей между двумя культурами нейронов и восстановление связей путем подсадки клеток.

Для локализации отдельных культур на одной подложке и формирования нейрональных связей был разработан трехкамерный микрофлюидный чип. Восстановление слабых связей между культурами осуществлялось с помощью двухэтапной посадки диссоциированных культур клеток гиппокампа мышей в микрофлюидный чип с тремя последовательно соединенными микроканалами камерами. В микроканалы прорастали аксоны нейронов, благодаря специальной конфигурации микроканалов, рост аксонов происходил в выбранном направлении. На первом этапе клетки сажались в 2 крайние камеры чипа. Средняя камера при этом оставалась пустой, тем самым моделируя место повреждения. Но втором этапе клетки подсаживались в среднюю камеру чипа, моделируя восстановление повреждения путем интеграции новых клеток.

В ходе работы была проведена оценка заполнения микроканалов аксонами до и после подсадки нейронов в среднюю камеру. После подсадки клеток заполненность каналов аксонами увеличилась и уже на 18 день составила 100%. Таким образом, новые клетки сформировали дополнительные связи, строго направленные в одну сторону за счет микроканалов микрофлюидного чипа. Анализ биоэлектрической активности клеток показал, что слабые синаптические связи между двумя популяциями клеток нейронов гиппокампа усилились за счет интеграции новой популяции клеток на место роста аксонов.

Полученный результат может использоваться для создания нового типа скаффолдов с реалистичной гетерогенной архитектурой связей между нейронами и оптимальной интеграцией с местом травмы мозга или других нейронных сетей.

ВЛИЯНИЕ НЕФТЕПРОДУКТОВ НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ВОДОРΟΣЛЕЙ

А. Д. Аптуллина, Е. А. Скочилова

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
aptyllina.nastyia.1996@mail.ru

Нефть и нефтепродукты являются наиболее опасными и широко распространенными поллютантами. Несмотря на многочисленные исследования, проблема влияния нефтезагрязнения на жизнедеятельность различных организмов, по-прежнему, остается актуальной. К сожалению, в литературе недостаточно данных о влиянии нефти и нефтепродуктов на жизнедеятельность водорослей, являющихся классическими тест-объектами при биотестировании. В связи с этим, целью данного исследования явилось изучение влияния нефтепродуктов, содержащихся в отходах производства, на выживаемость водорослей. В работе изучены отходы деревообрабатывающего предприятия. В песке и золе, взятых с территории предприятия, определяли содержание нефтепродуктов. Определение массовой доли нефтепродуктов основано на их экстракции из образца воздушно-сухой пробы хлороформом, отделении от полярных соединений методом колоночной хроматографии после замены растворителя на гексан и количественном определении гравиметрическим методом. В качестве тест-объекта для определения токсичности отходов производства использовали лабораторную культуру зеленых протококковых водорослей рода *Scenedesmus*. Методика основана на определении смертности особей при воздействии нефтепродуктов, присутствующих в отходах производства, по сравнению с контролем. В каждую пробу помещали 367 тыс./см³ водорослей. Через 72 часа считали количество выживших водорослей в тыс./см³ и переводили в проценты. Далее рассчитывали количество погибших особей, отклонение от контроля (%) для каждой концентрации исследуемой пробы. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программы Statistica 6.0. Достоверность различий оценивали по распределению Стьюдента на доверительном уровне 95%.

Результаты исследований показали, что нефтепродукты отсутствовали в золе, содержание их обнаружено только в песке. Кроме того, в песке и золе выявлено содержание тяжелых металлов, превышающее ПДК. Цинка в песке в 5,9 раза больше, чем в золе. Также в песке обнаружено содержание свинца, меди, никеля и мышьяка. В золе в 6,3 раза больше никеля и выявлено содержание оксида железа и цинка. Полученные нами результаты показали, что в песке и золе при 100%-й концентрации исследуемой пробы процент смертности водорослей составил 46 и 41%, при 10%-й – 32% и 13%, при 1%-й – 14% и 4% соответственно. На основании этих данных оценивали степень токсичности исследуемой пробы. Проба песка является нетоксичной при концентрации 1%, а зола – при концентрации 10%. Для определения безвредной кратности разбавления (БКР₂₀₋₇₂) на основании полученных в ходе биотестирования данных использовали пробит-анализ. С помощью графического метода были установлены кратности разбавления проб, вызывающих ингибирование 20% тест-объекта за 72 часа. Этот параметр выбран, исходя из того, что при гибели не более 20% организмов, популяция еще способна к самовосстановлению. Из полученного уравнения линии тренда получили значения величин $x = \lg C$, соответствующие величинам y (значениям пробитов). Пробитное значение 4,16 соответствует логарифму концентрации пробы зола 1,35, пробы песка – 0,49, вызывающее ингибирование 20% тест-объекта за 72 часа экспозиции. Логарифм концентрации переводили в процентную концентрацию: $\lg C_{20-72} = 1,35$, что соответствует процентной концентрации 22,44% (зола), $\lg C_{20-72} = 0,49$ соответствует процентной концентрации 3,08 % (песок). Таким образом, в результате проведенных расчетов установили, что для того, чтобы исследуемая проба зола не оказала токсического действия на тест-объект, ее безвредная кратность разбавления должна составить 4,5 раза (БКР₂₀₋₇₂ = 4,5), а для пробы песка – 32,4 раза (БКР₂₀₋₇₂ = 32,4).

МИКРОБИОТА ТОЛСТОЙ КИШКИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ КОЛОСТАЗОМ И ЕЕ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ПАТАЛОГИИ

А. А. Арзамасцева¹, А. С. Волкова¹, Д. Р. Хуснутдинова¹, Э. Э. Зиганишина¹,
К. А. Сакулин², Т. В. Григорьева¹, О. Ю. Карпунин², Д. Р. Яруллина¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
arzamasceva.nast@mail.ru

²Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

Хронический запор (ХЗ) или колостаз – нарушение функции опорожнения толстого кишечника длительностью более трех месяцев. Проблема ХЗ является одной из наиболее актуальных в современной колопроктологии – в структуре заболеваемости пациенты с ХЗ находятся на втором месте, уступая лишь больным геморроем. Современные данные указывают на наличие функциональной связи между нарушением моторно-эвакуаторной функции кишечника и составом его микробиоты, но до сих пор не установлено, какие изменения архитектуры микробного сообщества ЖКТ специфичны для ХЗ. Целью данного исследования является характеристика сообщества микроорганизмов толстой кишки пациентов с нарушенной моторно-эвакуаторной функцией желудочно-кишечного тракта.

В качестве объекта исследования использовали резецированные препараты толстой кишки пациентов, прооперированных по поводу декомпенсированной формы ХЗ. Материал исследовали в соответствии с разрешением Локального этического комитета ГБОУ ВПО КГМУ МЗ РТ (протоколы № 9 от 24.11.2015, № 3 от 21.03.2017). Методами классической микробиологии с помощью сред специального назначения оценили общую обсемененность образцов аэробными и факультативно анаэробными бактериями, бифидобактериями, энтеробактериями, в т. ч. *Salmonella* spp. и *Shigella* spp., и молочнокислыми бактериями (МКБ), в т. ч. лактобактериями. Во всех образцах толстой кишки обнаружено высокое содержание МКБ: от 10^4 до 10^{15} КОЕ/г. Бактерии семейства Enterobacteriaceae выявлены только в одном из пяти образцов ($7.5 \cdot 10^5$ КОЕ/г). Секвенирование генов 16S рРНК выполнили на секвенаторе MiSeq (Illumina). Анализ полученных данных проводили на платформе Basespace (Illumina). У пациентов с ХЗ в толстой кишке преобладали филы *Firmicutes* (31–52%) и *Bacteroidetes* (34–43%), в меньшем количестве присутствовали *Proteobacteria* (4–26%) и *Actinobacteria* (1–4%). Содержание в образцах МКБ и энтеробактерий, определенное культуральным методом и с помощью метагеномного анализа, существенно отличается. Методом секвенирования генов 16S рРНК не установлено взаимосвязи между тяжестью констипации и наличием/отсутствием в кишечнике бактерий определенного таксона. Тем не менее, выявлены отдельные микроорганизмы, которые способны оказывать влияние на моторную функцию кишечника посредством выделяемых метаболитов: метана (*Methanobrevibacter*), сероводорода (*Desulfovibrio*, *Bilophila*), бутирата (*Clostridiales*), ацетата и пропионата (*Bacteroides*).

Данное исследование расширяет представления о составе микробиоты толстой кишки человека при колостазе, а также доказывает необходимость параллельного использования традиционных культуральных методов и современных технологий ДНК-диагностики бактерий для объективной оценки состава микробного сообщества. Значимость полученных результатов для решения проблемы определяется перспективой их использования при разработке новых экспериментально и клинически обоснованных методов комплексного лечения пациентов с ХЗ.

Исследование выполнено в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОГО АНАЛИЗА КЛЕТОК ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Е. В. Архипова, И. П. Иванова

Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *arhipova@nnovgorod.ru*

Метод интерференционной микроскопии позволяет провести прижизненную визуализацию и оценить морфологические параметры клетки по фазовым портретам. Принцип действия лазерного интерференционного микроскопа основан на измерении локальных фаз света, отраженного объектом. Фазовый портрет клетки – это распределение величины оптической разности хода в различных областях объекта. Клетки системы мононуклеарных фагоцитов являются важными эффекторными клетками неспецифической иммунной системы. От функциональной активности фагоцитов зависят интенсивность иммунного ответа и гомеостаз организма. Кроме того, макрофаги участвуют в реакциях специфической защиты, обеспечивая антигенпрезентацию. В последнее время активно изучаются различные физико-химические факторы способные целенаправленно влиять на структурно-функциональное состояние клеток. УФ-излучение кварцевой лампы и газоразрядной плазмы являются источником активных частиц, участвующих в реакциях окисления и восстановления и способных влиять на модификацию макромолекул. Поэтому исследование влияния излучения плазмы искрового разряда и УФ-излучения кварцевой лампы на структурное и функциональное состояние перитонеальных макрофагов является актуальным. Таким образом целью данной работы являлось применение метода интерференционной микроскопии для прижизненного анализа клеток после физических воздействий.

Эксперименты проведены *in vitro*. Объектом исследования являлись перитонеальные макрофаги крыс линии Wistar. В качестве источника излучения использовали газоразрядное устройство ПИЛИМИН серии ИР-10 (спектр излучения сплошной с максимумом $\lambda=220$ нм, средний поток фотонов $(1,26\pm 0,2)\cdot 10^{-10}$ моль/(см²·с) и ультрафиолетовую лампу ДБК9 (характер спектра монохроматический с максимумом в области $\lambda=254$ нм, средний поток фотонов $5,4\cdot 10^{-8}$ моль/(см²·с). Суспензию клеток обрабатывали в течение 300, 600 и 1200 секунд. Исследования проводили с использованием лазерного микроскопа МИМ-340 (Швабе, Россия). В ходе исследования использовали объектив с оптическим разрешением $x20$ нм с апертурой 0,40. Общее увеличение системы $x1000$. Точность измерения по высоте – 0,5 нм, по полю – 20,0 нм. В качестве источника света использовали лазер с длиной волны 405 нм. Для визуализации перитонеальных макрофагов в центр предметного стекла с зеркальным напылением наносили вазелиновую рамку, в нее помещали образец объемом 10 мкл и накрывали покровным стеклом. Анализировали следующие параметры: максимальный и минимальный диаметр клетки, максимальная фазовая высота, площадь поверхности.

Установлено изменение размеров клеток после воздействия излучением газоразрядной плазмы и УФ-излучения ртутной лампы. После воздействия излучением плазмы искрового разряда при всех выбранных режимах воздействия наблюдается снижение фазовой высоты клеток на 7,19 – 10,03%. Кроме того, при режиме воздействия длительностью 1200 секунд установлено увеличение максимального диаметра клетки на 15,7% и площади поверхности на 40,49%. После воздействия УФ-излучением ртутной лампы при всех выбранных режимах воздействия наблюдается снижение фазовой высоты клеток на 9,87–18,52%. Установлено увеличение минимального диаметра клетки на 13,78 и 14,91% при режимах воздействия длительностью 600 и 1200 секунд соответственно. Показано увеличение максимального диаметра клетки на 20,54% при воздействии длительностью 1200 секунд. Площадь поверхности клеток увеличивается при режимах воздействия длительностью 600 и 1200 секунд почти в 2 раза.

Таким образом, можно предположить, что происходит «распластывание» макрофагов которое указывает на повреждение клеток после длительных режимов воздействия.

ИССЛЕДОВАНИЕ АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И СОРБЦИОННОЙ ЕМКОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГАЗОРАЗРЯДНЫМИ УСТРОЙСТВАМИ

К. А. Астафьева

Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1; kseniya130692@yandex.ru

Анализ АТФазной активности и сорбционной емкости эритроцитов дает информацию о состоянии восстановительной способности эритроцитов, которая меняется по мере изменения барьерных свойствах плазматической мембраны. Определение сорбционной емкости эритроцитов основано на изменении интенсивности окраски восстановленного метиленового синего в присутствии кислых продуктов обмена веществ в клетке. Цель работы – анализ АТФазной активности и сорбционной емкости мембран эритроцитов после воздействия газоразрядными устройствами.

Газоразрядные устройства: «Корона» («Новатор», Украина) – тихий электрический коронный разряд, длительность импульса 10 мкс, частота следования импульсов 100 ± 10 Гц, выходное напряжение 16 кВ; «Пилимин ИР-1» (НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцына МГУ, Москва) – длительность импульса 1500 мкс, энергия в импульсе 1,8 Дж, частота импульсов 1 Гц; «Пилимин ИР-10» – длительность импульса 150 мкс, энергия в импульсе $5,9 \cdot 10^{-2}$ Дж, частота импульсов 10 Гц; генератор плазмы (вспышечный коронный разряд) – имеет 7 разрядных электродов, на каждый электрод через балластный резистор с сопротивлением 20 МОм подается высокое напряжение отрицательной полярности 11 кВ. «Бриг» (РФЯЦ ВНИИЭФ, Саров Нижегородской области) – импульсное излучение плазмы искрового разряда (200–800 нм), длительность импульса 1–4 мкс, энергия в импульсе 5 Дж, частота импульсов 1 Гц; лампа ДБК-9 (НПП «Солнышко», Россия) – ультрафиолетовое излучение (220–400 нм), разряд генерируется в парах ртути, мощность 9 Вт, средний поток фотонов ультрафиолетового излучения $(5,4 \cdot 10)^{-10}$ моль/(см²·с). Эксперимент проведен на суспензиях эритроцитов крыс линии Wistar. АТФазную активность определяли по убыли неорганического фосфора в пробе (набор для определения неорганического фосфора «Фосфор-Витал»). Сорбционная емкость мембран эритроцитов (СЕЭ) исследовалась по методу А.А. Тойгабаева в нашей модификации. Измерения проводили на спектрофотометре «СФ-26» (Россия). Данные, полученные в эксперименте, обрабатывали с помощью пакетов прикладных программ Excel, Statistica 8.0. Статистическую значимость различий средних определяли по параметрическому критерию Стьюдента.

Установлено, что газоразрядные устройства медицинского назначения уменьшают концентрацию фосфора (следовательно, и активность АТФаз) и сорбционную емкость мембран эритроцитов. Наибольшие изменения в сорбционных процессах и в активности АТФаз вносит устройство «Бриг» в течение 600 секунд (на 90%) и УФ – излучение при максимальном времени воздействия 3600 секунд на 93% относительно контрольной группы. Снижение сорбционной емкости и активности АТФаз эритроцитов свидетельствует о неспособности эритроцитов транспортировать продукты метаболизма по кровяному руслу.

Можно предположить, что при данных физических воздействиях происходят изменения в соотношении белок-липид, возможно потеря интегрированных белков, что может привести к снижению сорбционной емкости эритроцитов и снижению активности АТФаз.

ИЗУЧЕНИЕ СКОРОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА МИТОХОНДРИЯМИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57Bl/6 *IN VIVO*

Т. А. Астраханова¹, С. И. Аферова¹, М. Д. Уразов¹, А. В. Усенко¹, И. В. Мухина^{1, 2},
М. В. Ведунова^{1, 2}

¹ Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
astrahanova.tatyana@yandex.ru

² Нижегородская государственная медицинская академия, 603950, Нижний Новгород,
просп. Гагарина, 70

В настоящее время требует дополнительного изучения пренатальная гипоксия, как один из факторов повреждения клеток головного мозга и развития нейродегенеративных заболеваний различной этиологии. Пренатальная гипоксия проявляется расстройством деятельности жизненно важных систем (центральная нервная система, дыхание). Причиной расстройств служит нарушение плодово-материнского кровоснабжения. Отмечается сдвиг реакции крови и ткани в кислую сторону, развитие метаболического ацидоза, снижение активности ферментов. Диагностика и лечение последствий пренатальной гипоксии сопряжены с определенными сложностями, что обусловлено рядом факторов. Прежде всего, можно отметить недостаточное понимание механизмов адаптации головного мозга при гипоксии в раннем онтогенезе. В связи с этим целью наших исследований стало изучение влияния хронической пренатальной гипоксии на функциональное состояние митохондрий.

В исследовании использовались новорожденные мыши линии C57Bl/6. Разработана методика моделирования хронической пренатальной гипоксии. Беременные самки ежедневно начиная с 14-х суток гестации до родов помещались в гипобарическую барокамеру, в которой в течение 2 часов поддерживали давление 350–370 мм рт. ст., что соответствует высоте 6500 м над уровнем моря. Подъем на «высоту» длился 1 мин. Определение параметров дыхания митохондрий мозга проводили по оценке скорости поглощения ими кислорода. Скорость потребления кислорода митохондриями регистрировали при помощи респирометра высокого разрешения OxuGraph-2k (Oroboros, Австрия). Установлено, что базальная скорость потребления кислорода, при окислении субстратов глутамата и малата, в контрольной группе у мышат P1 (первые сутки постнатального развития) достоверно увеличивается по сравнению с интактной группой на 45 % и составляет $4053,875 \pm 582,1$ пмоль/(с·мл), 1 мг белка. При стимулировании первого комплекса дыхательной цепи АДФ показатели в контрольной группе составили $16016,375 \pm 1196,9$ пмоль/(с·мл) что на 45% выше, чем в интактной группе. Также отмечена активация альтернативного сукцинатзависимого пути дыхания, при которой показатели в контрольной группе составили $10907,55 \pm 884,6$ пмоль/(с·мл), 1 мг белка, что на 40% выше, чем в интактной группе.

Таким образом, модифицированный нами метод хронической пренатальной гипоксии приводит к достоверным изменениям функционального состояния митохондрий. В дальнейшем планируются исследования роли эндогенных регуляторных молекул в адаптации митохондриального аппарата клетки.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-10149).

ОЦЕНКА ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЯХ

Т. А. Атряхайлова, Е. А. Пузаткина

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
taneshka.solntse@yandex.ru

В настоящее время заболевания щитовидной железы являются одними из самых распространенных в мире. Среди эндокринных заболеваний они занимают второе место после сахарного диабета. Для России эндемический зоб представляет важную медико-социальную проблему, поскольку более половины населенной территории принадлежит к биогеохимическим провинциям с низким содержанием йода в окружающей среде. По данным последних исследований ВОЗ и ЭНЦ РАМН России (2000), практически на всей территории нашей страны потребление йода с пищей и водой значительно снижены. Начальные проявления любых заболеваний щитовидной железы могут быть очень слабыми и незаметными. Ранняя диагностика таких заболеваний (учитывая их широкую распространенность среди населения и разнообразие признаков) требует врачебной настороженности. Это особенно важно при наличии других заболеваний, которые часто сопровождаются нарушениями функции щитовидной железы или являются следствием таких нарушений. Целью настоящей работы явилась оценка гормонального статуса щитовидной железы при различных патологиях. Для реализации данной цели нами были поставлены следующие задачи: определение процентного соотношения лиц с различным уровнем гормонов щитовидной железы, тиреотропина и аутоантител к тиреоидной пероксидазе в сыворотке крови и изучение концентрации йодсодержащих гормонов щитовидной железы и показателей содержания тиреотропина и аутоантител к тиреоидной пероксидазе в сыворотке крови обследованных лиц.

Исследование было проведено на базе клинико-диагностической лаборатории МЛПУЗ «Городской поликлиники №4» и на кафедре биохимии, клеточной биологии и микробиологии института естественных наук и фармации Марийского государственного университета. Нами были изучены результаты анализов 1789 человек, из них 1449 женщин и 340 мужчин. В зависимости от возраста, обследуемые были разделены на группы. Изучаемое гормональное исследование включало в себя: определение тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (Т3), тироксина (Т4) и антител к тиреопероксидазе (АТПО) в сыворотке крови. В клинико-диагностической практике в настоящее время гормоны щитовидной железы определяются методами ИФА, РИА, люминесценции, флюоресценции, электрохемилюминесценции.

Результаты исследований позволили нам сделать следующие выводы. Среди обследованных наибольшую долю составили лица, имеющие нормальные физиологические показатели тиреотропина, трийодтиронина и тироксина, как среди мужчин, так и среди женщин. Число лиц с высоким содержанием тиреотропина составило 25% у женщин и 30% у мужчин, аутоантител к тиреоидной пероксидазе – 30% у женщин. Доля женщин (26%) с повышенным содержанием тиреотропина в сыворотке крови значимо не отличалась от доли мужчин (30%). Уровень тиреотропина в сыворотке крови лиц с величинами показателей ниже и выше нормы имел достоверные отличия от физиологически нормальных значений. Содержание тиреотропина при гипофункции ниже границы физиологической нормы в десятки раз и у женщин, и у мужчин. Согласно логлинейному анализу, главным фактором, связанным с наличием патологии (выше или ниже нормы) для всех изученных гормонов, кроме трийодтиронина, был возраст пациентов.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОЛИГОКАРБОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ БИОХИМИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ ДИАТОМИТА, ЦЕОЛИТА И БЕНТОНитОВОЙ ГЛИНЫ

Ю. И. Афонина, А. В. Кожевникова, А. В. Козлов

Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы Минина, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1; *a_v_kozlov@mail.ru*

Наряду с ферментами протеолитического действия многие почвообитающие сапротрофы выделяют во внешнюю среду ферменты оксидоредуктазного типа, биохимическое действие которых направлено на осуществление редокс-процессов, приводящих к трансформации сложных органических веществ. К таковым относят также ферментные системы, продуцируемые большинством почвенных прокариот, относящихся к олиготрофной и, в частности, к олигокарбофильной биоморфе. В почвах метаболизм данных бактерий направлен, главным образом, на осуществление процессов трансформации гумусовых компонентов, а также предгумусовых матриц органической части почвы.

В практике современного почвоведения недостаточно сведений, описывающих поведение сапротрофных почвообитающих микроорганизмов дерново-подзолистых почв в условиях длительного взаимодействия с веществом минеральных удобрений и, в особенности, с такими нетрадиционными почвенными кондиционерами как природные кремнийсодержащие породы, ряд из которых в настоящее время активно изучается – диатомиты, цеолиты, бентонитовые глины и многие другие.

В рамках настоящих исследований целью явилось изучение динамики некоторых свойств культивируемой микробной суспензии олигокарбофильных бактерий, выделенных из дерново-подзолистых легкосуглинистых почв Нижегородской области, в условиях их взаимодействия с веществом диатомита Инзенского (Ульяновская область), цеолита Хотынецкого (Орловская область) и бентонитовой глины Зырянского (Курганская область) месторождений.

Микробиологические эксперименты проведены в 2017 г. на базе лабораторных комплексов Мининского университета, которые были поставлены по классическим биотехнологическим и биохимическим прописям. Определение биохимической активности бактериальной суспензии нитритного агара Теппер, на котором выращивалась культура олигокарбофилов, лизирующих породы, проводили по прописям определения ферментативной активности почвы с переложением методик на чистую биомассу бактерий (культуральную жидкость) без гомогенизирования бактериальных клеток пирокатехиновыми титриметрическими методами по К. А. Козлову.

Оксидоредуктазная активность культуральной жидкости эксперимента с олиготрофными бактериями имела аналогичные между породами закономерности, но различные направления изменений в зависимости от определяемого фермента. Так, полифенолоксидазная активность стабильно повышалась до 30-го дня опытов: до 0,92, 0,70 и 1,04 мл 0,01 Н раствора I₂/мл на варианте с диатомовой, цеолитовой и бентонитовой породами соответственно. Активность пероксидазы, наоборот, держалась на уровне более 2,0 мл 0,01 Н раствора I₂/мл при деградации диатомита до 20-го дня, на уровне 1,9–1,8 мл 0,01 Н раствора I₂/мл при деградации цеолита до 12-го дня и на уровне около 3,0 мл 0,01 Н раствора I₂/мл при деградации бентонитовой глины до 12-го дня эксперимента, после чего шел плавный спад активности данного фермента в системах.

За счет снижения активности пероксидаз и стабилизации активности полифенолоксидаз почвы, а также в условиях некоторого перераспределения родового (видового) разнообразия олиготрофной и автохтонной частей почвенного микробиома, изученного ранее, выявленные взаимосвязи и полученные данные по сохраняемости специфического органического вещества (гумуса) почвы, позволяют расценивать диатомит, цеолит и бентонитовую глину как стабилизаторы микробного статуса ПБК в части процессов трансформации гумусовых веществ в почве.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЗОСТРУКТУРЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА С₃- И С₄-РАСТЕНИЙ-ГАЛОФИТОВ СЕМЕЙСТВА CHENOPODIACEAE

Э. Б. Ахмадуллина

Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, 443011,
Самара, ул. Академика Павлова, 1; elvina.axmadullina.97@mail.ru

Известно, что произрастание растительных организмов на определенной территории обусловлено их адаптациями к целому комплексу факторов внешней среды. Изменения физиологических и биохимических процессов у растительных организмов являются ответными реакциями, позволяющими обеспечить устойчивость и выживаемость вида в окружающих условиях среды произрастания. На клеточном уровне к основным адаптивным механизмам реагирования на условия обитания относятся изменения функциональной активности ассимиляционного аппарата. Фотосинтетический аппарат в первую очередь и в наибольшей степени подвергается неблагоприятным воздействиям. От его состояния в большой степени зависят возможность выживания растений, их жизнедеятельность и продуктивность. Изменение параметров мезоструктуры листа может рассматриваться как адаптация фотосинтетического аппарата к разным экологическим условиям. Организация фотосинтетического аппарата растений на уровне структуры листа, а именно на клеточном и тканевом уровне, была названа мезоструктурной фотосинтетического аппарата.

Основной тканью листа является паренхимный комплекс клеток, несущий хлоропласты – мезофилл. Он представлен клетками основной паренхимы, расположенными между верхним и нижним эпидермисом. У типичных дорсовентральных листьев мезофилл неоднороден и дифференцирован на столбчатую (палисадную) и губчатую паренхиму. Клетки столбчатой паренхимы плотно сомкнуты, имеют продолговатую форму и располагаются перпендикулярно к верхней стороне листа. Губчатую паренхиму составляют относительно округлые клетки с большими межклетниками, которые занимают больший объем, чем сами клетки. Растения, у которых CO₂ восстанавливается в результате функционирования С₃- и С₄-циклов, были названы С₄-растениями, а растения, у которых функционирует только С₃-цикл – С₃-растениями. С₄-растения отличаются от С₃-растений по анатомии листовой пластинки. У С₄-растений листовая пластинка содержит большое количество проводящих пучков, что помогает быстрому оттоку продуктов фотосинтеза листа. Каждый проводящий пучок окружен одним слоем крупных хлорофиллоносных клеток обкладки, которые окружены одним или несколькими слоями мелких клеток мезофилла. Такое анатомическое строение листовой пластинки, получило название «кранц-анатомии».

Нами было проведено исследование структурно-функциональных характеристик ассимиляционного аппарата С₃- и С₄-растений сем. Chenopodiaceae. В качестве объектов исследования выбраны некоторые растения-галофиты данного семейства: С₃-растения – солерос солончаковый (*Salicornia perennans*) и сарсазан шишковатый (*Halocnemum strobilaceum*), собранные на территории бассейна соленого оз. Эльтон (Волгоградская область); С₄-растения – кохия простертая (*Kochia prostrata*), собранная возле реки Усень на территории деревни Новосуккулово, Туймазинский район, Республика Башкортостан; бассия очитковидная (*Bassia sedoides*), собранная в степи Синий Сыч недалеко от горы Жеребятница. Параметры мезоструктуры фотосинтетического аппарата определяли согласно методике мезоструктурного анализа А. Т. Мокроносова.

По результатам полученных данных можно судить, что С₃- и С₄-растения имеют особенности в строении фотосинтетического аппарата. В большей степени механизм структурной адаптации фотосинтетического аппарата к условиям обитания зависит от функциональных свойств вида, то есть к принадлежности его к определенному функциональному типу. Исследование мезоструктур С₃- и С₄-растений показало, что природные условия их местообитаний благоприятно сказываются на морфологических характеристиках растения.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ РАЗНОМАСШТАБНЫХ ПРИЗНАКОВ НЕЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ КИШКИ: ПРОБЛЕМЫ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

М. С. Балеев, М. Г. Рябков, Е. Б. Киселева, М. А. Сироткина, Н. Д. Гладкова

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Несмотря на общий прогресс экстренной хирургии, внедрение все более сложной диагностической аппаратуры, результаты лечения больных с острым нарушением кровообращения остаются неудовлетворительными. Цель исследования – определить в эксперименте разномасштабные морфофункциональные признаки нежизнеспособности ткани ишемизированной кишки.

В эксперименте исследовали морфофункциональное состояние ишемизированной кишечной стенки 2 групп животных (крыс линии Вистар). В первой группе (n=14) острую артериальную ишемию моделировали традиционным способом полной сегментарной турникетной ишемии тонкой кишки. Под общим обезболиванием смесью растворов 0,5 мл 3,5% Золетила R 100 и 0,1 мл Рометара, внутрибрюшинно, после срединной лапаротомии выделяли и лигировали *a. mesenterica cranialis*. Во второй группе (n=10) под общим наркозом, острую артериовенозную ишемию моделировали перевязкой петли тощей кишки и участка ее брыжейки эластическим жгутом из латекса. В обеих группах для определения признаков нежизнеспособности кишки использовали метод гистологического анализа, структурную оптическую когерентную томографию, ОКТ-микроангиографию, визуальный макроскопический контроль цвета и функциональной активности кишки.

В первой серии экспериментов установлено, что трансмуральный некроз тканей кишечной стенки ассоциирован с нарушением функции интрамурального сосудистого русла, что проявилось в статистически значимом снижении следующих показателей: длины функционирующих интрамуральных сосудов (на 5,6%, $p=0,029$), общей площади сосудистого русла (на 4,5%, $p=0,032$) и средней плотности сосудов (на 5,1%, $p=0,001$). При этом некроз, распространившийся на глубину только слизистой оболочки, был ассоциирован с дисфункцией микрососудов малого диаметра: их количество уменьшилось на 8,5%. Во второй серии экспериментов трансмуральный некроз проявлялся на ОКТ-микроангиограмме существенными достоверными изменениями: в участках кишки, нежизнеспособных на всю глубину стенки, интрамуральные сосуды на микроангиограмме не визуализировались. В тоже время, существенных изменений в состоянии сосудистого русла участков кишки с мелкоочаговым некрозом зафиксировано не было. При морфометрическом исследовании кишечника в обеих группах установлено, что толщина стенки увеличивалась на 25,2 % за счет пропорционального увеличения всех слоев, при этом соотношение долей серозно-мышечного (16,9%) и слизисто-подслизистого слоев (83,1%) значимо не отличалось от нормального. Внутри ущемленной петли кишки отмечалось увеличение доли серозно-мышечного слоя в сравнении с нормой ($p=0,001$) до 26,3 % и соответствующее снижение доли слизисто-подслизистого слоя. Визуальный контроль за цветом и функциональной активностью стенки кишки показал, что в первой группе макроскопические признаки нежизнеспособности появлялись через 180,5 мин. с момента перевязки мезентериальной артерии, а во второй группе – через 125,7 мин. с момента наложения лигатуры на петлю тонкой кишки. Таким образом, в результате экспериментального исследования было установлено, что признаки нежизнеспособности ишемизированной кишечной стенки являются разномасштабными, проявляются морфофункциональными нарушениями в биологических структурах размером от 10–15 мкм (интрамуральный микрососуд), изменениях толщины слоев кишечной стенки в пределах от 70 до 1000 мкм, макроскопических проявлениях на протяжении участков кишки размером в несколько сантиметров. Наиболее ранние и диагностически значимые изменения происходят в сосудах и участках тканей, размер которых находится в диапазоне 10–1000 мкм.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФИТОГОРМОНОВ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ЗАРОДЫШЕЙ СЕМЯН ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM*) *IN VITRO* ПРИ АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ

М. В. Балыкова, М. Н. Агеева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mary.balikova12@gmail.com

Растения гороха посевного широко используются в фундаментальных исследованиях для изучения регуляции процессов фотосинтеза и симбиотических взаимодействий. В настоящее время удобной моделью для выявления реакций растений на воздействия окружающей среды являются трансгенные растения с встроенными генетически кодируемыми флуоресцентными сенсорами. Одной из основных проблем при генетической модификации гороха является низкая частота трансформации – 0,2–13,5%. Ряд проблем в процессе трансформации гороха связано с этапом регенерации. На регенерацию растений могут оказывать влияние: освещение и температура, при которых культивируются растения, генотип растения, тип выбранного экспланта, минеральный состав питательной среды. Существенное влияние на процесс образование растений на эксплантах оказывают концентрации фитогормонов в среде регенерации.

Цель данной работы: исследовать влияние различных концентраций 6-бензиламинопурина (БАП) и α -нафтилуксусной кислоты (НУК) на регенерацию зародышей гороха посевного сорта Альбумен при агробактериальной трансформации.

Объектом исследования являлись растения гороха посевного (*Pisum sativum*) сорта Альбумен. В качестве экспланта использовали зародыши семян гороха, поврежденные в области верхушечной меристемы и меристемы корня. Семена стерилизовали 1 минуту в 80% C_2H_5OH , 5 минут 10% H_2O_2 , 5 минут 10% $NaClO$ после чего промыли в стерильной воде после каждого этапа и замочили в стерильной воде на 12 часов. На следующий день у семян удали семенную кожуру и выделили зародыш. Экспланты окунали в суспензию *Agrobacterium* после чего помещали на модифицированную среду Мурасиге-Скуга (МС) с различными концентрациями БАП/НУК (1/0,2, 1/0,4, 2/0,2 и 2/0,4 мг/л, соответственно) в темноте в течение четырех суток. Затем экспланты пересадили на среды с теми же концентрациями БАП/НУК, содержащие 300 мг/л цефатаксима и 100 мг/л канамицина. В качестве контроля использовались экспланты с аналогичными повреждениями меристем без обработки бактериальной суспензией на средах с антибиотиками и без. Растения выращивали при 16 часовом освещении (интенсивность освещения $55,5 \text{ мкМ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) и температуре $+25^\circ\text{C}$. Результаты исследования фиксировали через 3 недели.

Через 2 недели на всех исследуемых средах стали формироваться побеги в области поврежденной верхушечной меристемы. После 3 недель культивирования наиболее высокий показатель регенерации зародышей (56,3%) был отмечен на среде МС, дополненной БАП/НУК 2/0,4 мг/л. Меньше всего побегов (9,4%) регенерировало на среде МС с 1/0,4 мг/л БАП/НУК.

Таким образом, образование побегов на зародышах семян гороха происходило на всех исследуемых средах, но наиболее оптимальной средой для регенерации зародышей семян гороха посевного сорта Альбумен *in vitro* является питательная среда МС, дополненная БАП/НУК в концентрации 2/0,4 мг/л.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТАБОЛИТНЫХ ПРОФИЛЕЙ СЕМЯН *BRASSICA NAPUS* ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ И УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ

М. П. Банкин¹, Т. Е. Билова^{1,2}, А. Г. Дубовская³, В. А. Гаврилова³, А. А. Фролов²,
С. С. Медведев¹, Г. Н. Смоликова¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 6/9; mikle.p.bankin@gmail.com

²Институт биохимии растений им. Лейбница, Халле, Германия

³Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова

Старение семян рассматривают как накопление структурных и метаболических повреждений, приводящих к нарушению функций вплоть до потери жизнеспособности. При оптимальных внешних условиях семена могут поддерживать жизнеспособность годами и даже десятилетиями. Однако, если условия не оптимальны, старение может проходить очень быстро, всего за несколько дней. Эффективным приемом, позволяющим в краткие сроки моделировать длительное хранение семян, является т.н. ускоренное старение (УС). Остается открытым вопрос, насколько изменения, происходящие в семенах при УС, близки изменениям, происходящим в процессе длительного хранения.

Объектом исследования являлись семена рапса сорта Оредеж-2 селекции Ленинградского НИИСХ Белогорка (к-4917) из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова. Длительное хранение семян осуществлялось открытым способом при +18°C и 5% влагосодержании. УС проводили путем инкубации семян при +40°C и 10% влагосодержании в течение 1 и 7 суток. Контролем являлись семена со всхожестью 99%. Через 4 года хранения и 1 сутки УС всхожесть семян снижалась до 91%. Через 9 лет хранения и 7 суток УС всхожесть семян снижалась до 46%. На первом этапе работы была проведена оценка развития окислительного стресса по нарушению целостности клеточных мембран и содержанию окисленной (GSSG) и восстановленной форм глутатиона (GSH). Целостность клеточных мембран оценивали кондуктометрическим методом по выходу электролитов из набухающих семян. Показано, что в условиях УС степень повреждения мембран была в 2 раза выше, чем при длительном хранении. Длительное хранение семян не влияло на содержание GSH и GSSG. Однако УС приводили к резкому изменению соотношения GSSG/GSH.

Относительный количественный анализ низкомолекулярных метаболитов проводили на газовом хроматографе, сопряженном в режиме онлайн с масс-спектрометром (Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra). Матрица данных для метаболомного анализа основывалась на интеграции площади пиков масс-хроматограм, построенных для характеристических m/z и t_R метаболитов, и нормированных по сырому весу. Статистический анализ проведен при помощи программного обеспечения MetaboAnalyst 3.0 (<http://www.metaboanalyst.ca>) с использованием метода дискриминантного анализа проекций на латентные структуры (PLS-DA). Полученная PLS-DA модель показала достоверные биохимические различия между семенами, всхожесть которых была снижена в процессе длительного хранения и УС. Метаболиты идентифицировали при помощи спектральных библиотек NIST/EPA/NIH 11 Mass Spectral Library (<http://www.nist.gov/srd>) и GMD (<http://gmd.mpimp-golm.mpg.de>). Длительное хранение приводило к увеличению содержания яблочной кислоты, сахарозы, раффинозы, рибитола и маннитола. После УС содержание этих сахаров и сахароспиртов, наоборот, снижалось, однако, увеличивалось содержание арабинитола, галактозы, сорбозы, глюкозы, фруктозы и сорбитола. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что снижение всхожести семян рапса в процессе длительного хранения и ускоренного старения, происходило разными метаболическими путями.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 16-16-00026 с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие клеточных и молекулярных технологий» научного парка СПбГУ.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И АКТИВНОСТИ ОБЩЕЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ СИНДРОМОМ «ПЫЛАЮЩЕГО РТА» В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ШИРОКОПОЛОСНЫМ КРАСНЫМ СВЕТОМ

А. В. Баранова¹, Н. В. Тунова², К. Н. Конторщикова^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
divitty@yandex.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Синдром «пылающего рта» (СПР) – хроническое заболевание полости рта, не имеющее явных патогенетических причин, при котором возникают болезненность, жжение, покалывание, чувство онемения языка и других участков слизистой оболочки рта на фоне клинически неизменной слизистой. Цель исследования – изучить показатели интенсивности окислительных процессов и активности общей антиоксидантной системы защиты сыворотки крови у больных СПР в результате воздействия широкополосным красным светом.

Под наблюдением находились 30 больных СПР, в схему комплексного лечения которых включали воздействие широкополосным красным светом транскраниально, в области шейно-воротниковой зоны и в проекции болевых точек языка ежедневно 15 минут суммарно, в течение 20 дней. Контрольную группу составили 30 пациентов без СПР, сопоставимых с больными по возрасту, без сопутствующей патологии.

Состояние интенсивности окислительных процессов и активности общей антиоксидантной системы защиты сыворотки крови у больных СПР изучали по данным анализа индуцированной биохемилюминесценции, содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ): диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ), расчета коэффициента липопероксидации (соотношение ОШ/(ДК+ТК)).

Показатели индуцированной биохемилюминесценции у больных СПР до лечения статистически значимо превышали показатели условно здоровых людей: значения I_{\max} и S , отражающие интенсивность протекания свободнорадикальных процессов, – в 3,3 и 2,4 раза соответственно, значение $\lg(-2\alpha)$, характеризующее скорость восстановления общей антиоксидантной системы защиты – в 3,8 раза, а значение показателя Z , демонстрирующего уровень работы антиоксидантной системы защиты, статистически значимо снижалось в 1,4 раза. При этом уровни продуктов ПОЛ у больных СПР до лечения также превышали показатели условно здоровых людей: первичные продукты – ДК – статистически значимо в 1,1 раза, ТК – статистически незначимо в 1,1, конечные продукты – ОШ, а также показатель ОШ/(ДК+ТК) – коэффициент липопероксидации, свидетельствующий о направленности процессов ПОЛ в сторону образования конечных продуктов, – статистически значимо в 2,8 и 2,6 раза соответственно.

После комплексного лечения в сочетании с курсом фототерапии значения I_{\max} , S , $\lg(-2\alpha)$ статистически значимо снижались относительно показателей больных СПР до лечения, а показатель Z повышался статистически незначимо. Уровень продуктов ПОЛ – ДК – статистически незначимо повышался относительно показателей больных СПР до лечения, уровни ТК, ОШ, а также коэффициент липопероксидации имели тенденцию к снижению.

Комплексное лечение в сочетании с курсом фототерапии способствовало коррекции протекания окислительных процессов за счет стимуляции работы общей антиоксидантной системы защиты, ингибирования свободнорадикального окисления, о чем свидетельствовало снижение показателей индуцированной биохемилюминесценции и тенденция к снижению уровней продуктов ПОЛ, коэффициента липопероксидации, что в свою очередь указывало на повышение способности организма больных СПР противостоять окислительным процессам.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИОПУХОЛЕВОГО ОТВЕТА, ИНДУЦИРОВАННОГО ИММУНОТЕРАПИЕЙ АНТИТЕЛАМИ ПРОТИВ СТЛА-4, НА МОДЕЛИ МЕЛАНОМЫ У ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ C57BL/6-FOXР3^{EGFP}

Л. Н. Барбашова¹, Д. В. Южакова¹, Н. В. Клементьева¹, Г. В. Шаронов^{1, 2},
Е. В. Загайнова¹, Д. М. Чудаков^{1, 2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; liliya.barbashova@gmail.com

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Одной из причин развития рака является его способность ускользать от надзора иммунной системы, в том числе за счет экспрессии ингибирующих сигналов, которые тормозят активацию опухоль-специфических лимфоцитов. Иммуноterapia антителами против ингибиторов контрольных точек является на сегодняшний день перспективным направлением в борьбе с раком. Целью работы является изучение противоопухолевого иммунного ответа при иммунотерапии антителами против СТЛА-4 (anti-СТЛА-4) на мышинной модели меланомы.

В работе использованы трансгенные мыши линии C57BL/6-FoxP3^{EGFP}, у которых регуляторные Т-клетки экспрессируют химерный транскрипционный фактор FoxP3-EGFP. Мышам подкожно прививали 1 млн клеток мышинной меланомы B16F0. Иммуноterapia проводили путем внутрибрюшинной инъекции антител anti-СТЛА-4 (Bio X Cell, США) в дозе 250 мкг на мышь. В качестве контроля вместо антител вводили PBS. Лечение начинали на 10 день по достижению размера опухоли 3-4 мм. После терапии анализировали скорость роста опухоли и содержание основных субпопуляций лимфоцитов (хелперные CD4+, цитотоксические CD8+ и регуляторные CD4+EGFP+ Т-клетки, CD19+ В-клетки). Была подобрана оптимальная схема иммунотерапии с трехкратной инъекцией на 10-й, 11-й и 14-й дни роста опухоли, которая обеспечила значимый терапевтический эффект: на 32 день после инокуляции опухолевых клеток выживаемость мышей в группе «anti-СТЛА-4» составила 45% против 0% в контрольной группе. При данной схеме терапии на 16 день роста опухоли было выявлено увеличение соотношения CD4+/CD8+ лимфоцитов среди опухоль-инфильтрирующих лейкоцитов в результате терапии по сравнению с контролем. Мы также обнаружили прямую корреляцию между размером опухоли и относительным содержанием в ней В-клеток: чем больше опухоль, тем больше в ней процент В-клеток.

Наши данные указывают, что не только цитотоксические Т-клетки участвуют в противоопухолевом иммунном ответе, но и Т-хелперные и В-клетки также играют важную роль. Для дальнейшего более детального изучения anti-СТЛА-4-индуцированного иммунного мы выделили описанные субпопуляции клеток для анализа их клонального состава и экспрессии генов. Этот анализ еще продолжается.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 14.W03.31.0005.

ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ СОПРОВОЖДЕНИЯ ПРОЦЕССА ЛЕЧЕНИЯ ЛАЗЕРОМ

Р. О. Баринов, К. М. Шунин, Е. Н. Викулова, Д. С. Мартынов

Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, 603951, ГСП-41, Нижний Новгород, ул. Минина, 24; *barinovr@list.ru*

Лазеротерапия поучила широкое распространение в современной физиотерапии, благодаря простоте методике применения и широкой доступности как профессиональных, так и бытовых медицинских лазеров. Использование лечебных лазерных приборов не связано с наличием специальной профессиональной квалификации и может выполняться даже самим пациентом. Противопоказания к применению лазеротерапии имеются, но они незначительны и плохо формализованы в виде недостаточной проработки вопроса о механизме влияния лазерного излучения на человеческий организм.

Цель работы – выбрать методику оценки состояния здоровья человека, выполняемую без использования специального медицинского оборудования. Разработать информационную модель и архитектуру программного обеспечения, позволяющего осуществлять анализ динамики изменения состояния пациента при лечении лазером, формировать рекомендации по выбору схемы воздействия, предоставлять возможность для ввода данных о выполняемой лечебной процедуре и данных состояния здоровья пациента, с целью их дальнейшей автоматизированной обработки. Выполнить проектирование и сборку миниатюрного бытового медицинского лазера со сменными насадками.

Лазеротерапия имеет сложные механизмы влияния на регуляторные функции человеческого организма. Лазерное излучение оказывает воздействие не только на рецепторы периферической нервной системы (ПНС), но и воздействует непосредственно на ткани и кровь. Регулярное использование лазеротерапии способствует улучшению общего состояния человеческого организма и используется для лечения ряда заболеваний, в том числе, заболеваний опорно-двигательного аппарата. Оценка уровня физического состояния здоровья по Е.А. Пироговой позволяет выполнять формировать обобщенную оценку на основании данных частоты сердечных сокращений (ЧСС), пульсового артериального давления (АДП), возраста (В), массы тела обследуемого (М) и роста (Р). Оценка вариабельности сердечного ритма, предложенная коллективом Вдовиной Н.В. и Борисова В.И., позволяет выполнить скрининг анализ состояния сердечнососудистой системы (ССС) обследуемого. Были рассмотрены методы оценки состояния здоровья, изучены доступные модели бытовых и профессиональных лечебных лазеров, сделан обзор описания методов лазеротерапии. Собран рабочий прототип миниатюрного бытового медицинского лазера со сменными насадками, оснащенный модулем беспроводной связи, позволяющим выполнять удаленное управление прибором.

Разработан и собран портативный бытовой медицинский лазер со сменными излучающими насадками; выполнено проектирование архитектуры программного обеспечения информационно-аналитической системы для сопровождения процесса лечения лазером

Предлагаемая информационно-аналитическая система может быть использована в качестве методологического и информационного обеспечения для создания базы современной телемедицины. Использование методов машинной обработки данных позволяет автоматизировать процесс анализа данных состояния пациентов, обеспечить минимизацию врачебной ошибки и снизить общий уровень заболеваемости среди населения Российской Федерации. Разработанный миниатюрный бытовой медицинский лазер может быть использован для проведения как лечебных, так и профилактических физиотерапевтических процедур лазеротерапии.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО КУРСА ПРИМЕНЕНИЯ ИНГАЛЯЦИЙ NO НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЙ ПОЧЕК КРЫС

К. Л. Беляева¹, А. Г. Соловьева¹, А. С. Корягин², Н. В. Диденко¹, А. И. Дударь²

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18; *skoln94@mail.ru*

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Несмотря на многочисленные подтверждения положительного действия NO на организм при различных патологиях, ранее не изучалось влияние длительного применения оксида азота на энергетический метаболизм органов выделения здоровых животных. Цель исследования – изучить влияние NO на активность оксидоредуктаз в почках крыс на 30 и 60 сутки после его применения.

Эксперимент проведен на 56 крысах-самцах Wistar, разделенных на 7 групп: 1 группа – норма – интактные крысы; животные 2–7 групп получали ингаляции NO 30 дней по 5 минут ежедневно от генератора NO (РФЯЦ, г. Саров) в концентрациях 20ppm, 50ppm, 100ppm. Крысы 5, 6, 7 групп после курса ингаляций 30 суток не подвергались никаким воздействиям (восстановительный период). Животных 2–4 групп выводили из эксперимента на 30-е сутки, крыс 5–7 групп – на 60-е сутки путем декапитации под наркозом. В субклеточных фракциях, полученных методом дифференциального центрифугирования, определяли удельную активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ), алкогольдегидрогеназы в прямой (АДГпр) и обратной (АДГобр) реакциях, лактатдегидрогеназы в прямой (ЛДГпр) и обратной (ЛДГобр) реакциях на спектрофотометре Power Wave классическими методами.

Показано, что 30-дневные ингаляции 20ppm NO привели к повышению активности АлДГ в цитозоле и митохондриях почек на фоне снижения (15%) активности фермента в гомогенате. После восстановительного периода отмечено снижение активности АлДГ во всех субклеточных фракциях при использовании 20ppm и 50ppm NO. Однако 100ppm NO привело к повышению активности АлДГ в гомогенате почек на 400% по сравнению с нормой. Обнаружено повышение активности АДГпр и снижение АДГобр при всех концентрациях NO в гомогенате и митохондриях на 30 сутки опыта по сравнению с нормой. Удельная активность АДГпр и АДГобр снизилась при всех концентрациях NO в цитозоле. На 60 сутки выявлено уменьшение АДГпр на 55% в гомогенате при 20ppm NO по сравнению с 30 сутками. Обнаружено повышение активности АДГобр при 50ppm NO в гомогенате на 275% на 60 сутки по сравнению с 30 сутками. Полученные результаты исследования активности АлДГ и АДГ позволяют предположить возможность дозозависимого накопления альдегидов при длительном применении NO. Во 2, 3 группах выявлено снижение активности ЛДГобр во всех фракциях при всех концентрациях NO наибольшее выраженное при 50ppm. Активность ЛДГпр возросла в гомогенате и митохондриях на 30 сутки по сравнению с нормой. Тенденция к повышению активности ЛДГпр сохранилась на 60 сутки во всех фракциях почек при всех концентрациях NO с максимальным увеличением при 100ppm по сравнению с 4 группой крыс. Полученные результаты свидетельствуют о преобладании анаэробного пути метаболизма, дозозависимом снижении оксигенации клеток при 30-дневном применении NO. После восстановительного периода отмечено повышение адаптации клеток почек к накоплению лактата, ацидозу и гипоксии после применения NO.

При 30-дневном применении всех концентраций NO выявлено повышение активности АДГпр в гомогенате, АлДГ – в цитозоле и митохондриях, снижение ЛДГобр во всех субклеточных фракциях почек. В восстановительный период после ингаляций 20, 50 и 100ppm NO показано повышение активности ЛДГпр и АДГпр в гомогенате, цитозоле и митохондриях почек, снижение АДГобр в цитозоле и митохондриях.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ И ГИПЕРТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM*)

Е. В. Берестова, Ю. В. Сеницына

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vfnhtirf97@mail.ru

В настоящее время активно изучается влияние на растения абиотических и биотических стрессов, сглаживание последствий которых является целью современной агрономии. Наиболее часто приходится сталкиваться с проблемой снижения роста и урожайности из-за установления неблагоприятных температурных условий. В последние десятилетия в число изучаемых факторов входят переменные магнитные поля, значения фона которых возрастают с развитием индустрии. Последствиями рассматриваемых воздействий являются перестройки некоторых метаболических процессов, в том числе окислительный стресс. Наиболее важным представителем антиоксидантной системы растений является фермент супероксиддисмутаза (СОД), катализирующих диспропорционирование супероксидных анион-радикалов до молекулярного кислорода и пероксида водорода, предотвращая образование высокоактивных свободных радикалов. В связи с этим целью работы являлось исследование влияния переменного магнитного поля, гипертермии и комбинирования магнитного поля и гипертермии на активность СОД и изучение ее изоферментного состава.

В качестве объекта исследования было выбрано однолетнее травянистое растение – горох посевной (*Pisum sativum*) сорта «Альбумен», который выращивался методом водной культуры в климатической камере в режиме день/ночь 16/8 и при температуре +23°C. Для исследований использовались листья проростков гороха возрастом 14 дней.

Растения были разделены на следующие экспериментальные группы: контроль, магнитное поле (1,5 мТл, 15 Гц; 30 мин.), гипертермия (+42°C; 30 мин.), предварительная обработка магнитным полем с последующей гипертермией.

Метод определения активности СОД основывался на определении степени торможения ферментом восстановления нитросинего тетразолия супероксидными анион-радикалами, образовавшимися при окислении рибофлавина под люминесцентными лампами. Обнаружение изоферментного состава проводилось с помощью вертикального диск-электрофореза в полиакриламидном геле.

В результате работы показано, что суммарная активность СОД в листьях гороха после гипертермического воздействия возрастала по сравнению с контролем в 3,4 раза, после обработки магнитным полем – в 2,5 раза, после комбинированного воздействия – в 1,7 раза по сравнению с контролем, но уменьшалась почти в 2 раза по сравнению с образцами, прошедшими только гипертермическую обработку. Методом электрофореза были обнаружены изоформы СОД: Mn-СОД, Fe-СОД, две изоформы Cu/Zn-СОД. Изучаемые воздействия не оказали влияния на изоферментный состав и не выявили наиболее чувствительную к какому-либо из них изоформу.

Таким образом, свободнорадикальные процессы, вызванные переменным магнитным полем и гипертермией, усиливались по сравнению с контролем, о чем свидетельствует повышение активности СОД. В случаях комбинированного воздействия переменного поля и гипертермии наблюдалось снижение активности фермента по сравнению с ее активностью в тканях растений, подверженных только температурному стрессу, поэтому можно предположить, что предварительная обработка магнитным полем выступала защитным фактором, предотвращающим избыточное развитие окислительного стресса в результате гипертермии.

ВЛИЯНИЕ ПРОЛИНА НА СТАБИЛЬНОСТЬ МЕМБРАН КЛЕТОК РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Е. В. Блинова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
iminashi@yandex.ru

Пролин накапливается при воздействии различных стрессоров на организм растения. Существует предположение, что повышенная устойчивость растений может быть связана с высоким содержанием пролина. В связи с этим целью работы оценить влияние пролина на стабильность мембран клеток растений пшеницы в условиях осмотического стресса.

Объектом исследования служили недельные проростки пшеницы, выращенные на 1 мМ растворе пролина и воде (контроль). Для выявления способности проростков пшеницы поглощать экзогенный пролин, растения были разделены на 4 экспериментальных группы: этиолированные проростки, выращенные на воде; этиолированные проростки, выращенные на 1 мМ растворе пролина; зеленые проростки, выращенные на воде; зеленые проростки, выращенные на 1 мМ растворе пролина. После недельного выращивания в корнях и побегах проростков определялось количественное содержание пролина по методу L. S. Bates. Для создания осмотического стресса, недельные проростки помещались корнями в 0,5 М раствор маннита на три часа, затем они помещались корнями в воду на 20 часов для восстановления осмотического баланса. При этом проводилась оценка выхода электролитов с помощью кондуктометра и оценка содержания пролина по методу Bates. Данные показатели измерялись до стрессового воздействия, сразу после стрессового воздействия и после восстановления осмотического баланса.

Показано, что пролин накапливается в побегах и корнях этиолированных проростков выращенных на пролине, при этом его содержание относительно контроля в побегах было выше на 67%, а в корнях на 260%. Зеленые проростки не показали достоверных различий в накоплении пролина. Под действием стресса зеленые проростки, выращенные на пролине, накапливали пролин: по сравнению с исходным уровнем содержание пролина после стресса увеличилось приблизительно на 82%, а после восстановления осмотического баланса на 123%. У контрольных растений стресс не вызывал накопление пролина. Проводимость мембран у контрольных проростков снижалась под действием осмотического стресса; у проростков, выращенных на пролине, проводимость мембран напротив увеличивалась.

Таким образом, в отсутствие стресса накопление пролина показали этиолированные проростки; зеленые проростки пролин не накапливали. При осмотическом стрессе проростки, выращенные на пролине, показали накопление этой аминокислоты, что сопровождалось увеличением проницаемости мембран, что можно трактовать как снижение их стабильности.

СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В СОЧЕТАНИИ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

А. В. Бобков, К. Н. Контрощикова

Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; gordon.shezh@mail.ru

Значительная распространенность артериальной гипертензии и хронической обструктивной болезни легких среди населения, высокий процент заболеваемости, высокая смертность, а также частая встречаемость их сочетанного состояния в клинике, обуславливает высокую медицинскую и социальную значимость исследований этих заболеваний. У больных отмечается нарушение антиоксидантной системы и развитие «оксидативного стресса», способствующего выделению большого количества свободных радикалов, способных повреждать клеточные мембраны. Отсюда, целью представленного исследования явилась оценка состояния про и антиоксидантного баланса в сыворотке крови больных артериальной гипертензией с хронической обструктивной болезнью легких. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: 1) оценить процессы свободнорадикального окисления путем проведения анализа индуцированной биохемилюминесценции (БХЛ) в сыворотке крови больных артериальной гипертензией в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких; 2) оценить уровень продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК), оснований Шиффа (ОШ)) в сыворотке крови больных артериальной гипертензией с хронической обструктивной болезнью легких в ремиссии и условно здоровых людей; 3) определить содержание оксида азота в сыворотке крови больных артериальной гипертензией с хронической обструктивной болезнью легких в ремиссии и условно здоровых людей; 4) провести статистическую обработку полученных результатов, оценить показатели СРО и ПОЛ у больных артериальной гипертензией с хронической обструктивной болезнью легких в ремиссии по сравнению с показателями условно здоровых людей.

Объектом исследования служила сыворотка крови больных артериальной гипертензией в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких, находившихся на лечении в ГБУЗ НО «Городская клиническая больница № 5». Всего проанализировано 65 образцов сыворотки крови больных и 12 образцов от условно здоровых людей. В ходе проведенных исследований у больных артериальной гипертензией в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких были выявлены существенные нарушения процессов свободнорадикального окисления, сопровождавшихся снижением активности и скорости восстановления антиоксидантной системы защиты, повышением продукции свободных радикалов, а также накоплением первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов – оснований Шиффа – наиболее токсичных соединений, которые вызывают повреждение мембранных структур клеток и приводят в дальнейшем к их гибели. Также было замечено увеличение количества конечных метаболитов оксида азота – нитратов и нитритов. Это свидетельствует о дисфункции эндотелия у больных и образовании токсичного свободнорадикального соединения – пероксинитрита, способного нарушать энергетический обмен и синтез ДНК.

ХАРАКТЕРИСТИКА БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ НАНОАНТИТЕЛ ПРОТИВ TNF, СЛИТЫХ С КРАСНЫМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ БЕЛКОМ KATUSHKA
Е. В. Большакова, Е. В. Важдеаева, Е. Н. Горшкова, Е. А. Василенко, В. В. Мохонов, И. В. Астраханцева

Центр молекулярной биологии и биомедицины Университета Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д; lena16.07.95@mail.ru

Фактор некроза опухоли (TNF) – многофункциональный цитокин, играющий важную роль во многих биологических процессах. Однако его чрезмерная продукция является ключевым элементом в патогенезе хронических аутоиммунных болезней. Предполагается, что перспективным подходом в антицитокиновой терапии аутоиммунных заболеваний является селективная блокировка TNF на поверхности иммуноцитов миелоидного ряда. Кроме того, использование флуоресцентных биспецифических наноантител, позволяющих визуализировать TNF в процессе развития патологии, может послужить основой для создания новых агентов для тераностики. Цель настоящей работы – исследование функциональной активности биспецифического флуоресцентного наноантитела против TNF BV1-Kat.

В ходе работы были созданы генетические конструкции, кодирующие флуоресцентное биспецифическое наноантитело BV1-Kat и контрольное наноантитело BV1C-Kat. Каждое из них представляет собой слитный белок, состоящий из двух однодоменных антител верблюда (VHH) и флуоресцентного белка Katushka. Один домен, связываясь с TNF, блокирует его физиологическую активность, а второй домен специфичен либо к маркеру мышинных макрофагов F4/80 (BV1-Kat), либо к лактоферрину (BV1C-Kat). Флуоресцентные наноантитела были очищены методом металл-хелатной аффинной хроматографии с последующим трехэтапным диализом. Способность данных наноантител блокировать TNF была оценена *in vitro* в цитотоксическом тесте. Оценка связывания макрофагального TNF наноантитела была проведена методом проточной цитофлуориметрии.

Наноантитела BV1-Kat и BV1C-Kat экспрессировались в растворимой фракции и были очищены в нативных условиях в буферах, содержащих 25 мМ HEPES, 500 мМ NaCl, 10 % глицерина, 1 мМ β -меркаптоэтанола, 0,02 % TritonX-100. Элюция наноантител проводилась при концентрации имидазола 300 мМ. Данные, полученные с помощью проточной цитофлуориметрии, свидетельствуют о том, что наноантитело BV1-Kat способно эффективно связываться с макрофагами в отличие от наноантитела BV1C-Kat. Цитотоксический тест показал, что концентрация наноантител, при которой наблюдалась 50% выживаемость клеток, составила: для BV1-Kat – $9,4 \cdot 10^4$ pM, для BV1C-Kat – $2,9 \cdot 10^4$ pM.

В результате работы были исследованы биологические свойства биспецифических флуоресцентных наноантител BV1-Kat и BV1C-Kat и показано, что они являются эффективным агентом для тераностики.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-04-01478).

БИОДЕГРАДАЦИЯ СКАФФОЛДОВ НА ОСНОВЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ БИОПОЛИМЕРОВ

И. И. Бронникова¹, М. Н. Егорихина²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

²Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *Ira-Bronnikova-2014@yandex.ru*

Тканеинженерные конструкции (скаффолды) разрабатываются в качестве временной замены нативного внеклеточного матрикса (ЕСМ) с целью оптимизации условий для развития регенеративного процесса в участках поврежденной ткани. Они обеспечивают временную поддержку клеток в процессе формирования естественного ЕСМ, создают условия для метаболизма и дифференцировки клеток, возможности васкуляризации и ремоделирования регенерирующей ткани. В настоящее время широко распространено использование природных полимеров в качестве материалов для скаффолдов применяемых, для восстановления тканей при различных повреждениях. Эти материалы обладают свойством биодegradации, что позволяет с течением времени при развитии регенеративного процесса добиться замещения конструкции новообразованной тканью. Целью данной работы является изучение скорости биодegradации скаффолдов на основе естественных биополимеров.

Было проведено исследование по оценке скорости биодegradации фибрин-коллагеновых скаффолдов (решение о выдаче патента от 14.02.2018 по приоритетной справке № 2017112424). Из 7 образцов скаффолдов при помощи шаблона были выделены фрагменты диаметром 8 мм и помещены в 24-луночный планшет (21 образец). Исследование биодegradации образцов скаффолдов проводили в 7 повторностях с каждым из трех растворов: ростовая среда ДМЕМ (контроль), раствор трипсина (0,25%), раствор коллагеназы (0,2%). Образцы скаффолдов в соответствующих растворах инкубировали при +37°C в CO₂ – инкубаторе. Через 2, 4, 6, 24, 48, 120 часов из каждой лунки отбирали пробу объемом 100 мкл, пробы хранили при температуре –80°C. Отобранные пробы каждой лунки компенсировались в объеме 100 мкл соответствующим раствором. В отобранных пробах измеряли общее количество белка, предварительно разморозив при комнатной температуре в течение 24 часов. Концентрацию белка в пробах определяли на рефрактометре (ИРФ-456 КАРАТ МТ) в соответствии с калибровочным графиком.

Установлено, что в растворе коллагеназы скаффолд деградировал быстрее, чем в растворе трипсина. Известно, что коллагеназа очень хорошо расщепляет полипептидные цепи в структуре коллагена, а также может действовать на определённые звенья цепи в структуре фибрина. Так и в фибрине, и в коллагене встречаются одинаковые аминокислоты: лизин, аспартат, глутамат и глицин, после которых находится точка пробоя полипептидной связи для данного фермента, чем и объясняется более активное действие коллагеназы на структуру фибрин-коллагенового скаффолда. В тоже время биодegradация скаффолдов под действием трипсина была замедлена по сравнению с таковой под действием коллагеназы. Полученная разница, по-видимому, связана с тем, что трипсин оказывает своё действие в основном на диаминомонокарбоновые кислоты, такие как гистидин, аргинин, лизин, которых достаточно много в фибрине и значительно меньше в коллагене. Можно заключить, что меньшая активность дегradации скаффолда в растворе трипсина по сравнению с биодegradацией в растворе коллагеназы, очевидно, связана с тем, что трипсин активно разрушал фибриновую часть скаффолда и в меньшей степени коллагеновую. В то время как коллагеназа расщепляла оба белка составляющих основу скаффолда. Таким образом, при исследовании биодegradации скаффолдов, состоящих из нескольких полимеров целесообразно использовать несколько ферментов для получения более полной информации о скорости биодegradации конструкции в различных условиях.

СЕНСОРНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КРЫС С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ В МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ МИГРЕНИ

Г. Ф. Бурханова, Д. К. Жилина, А. Р. Зиганшина, Е. В. Герасимова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
gulshat2205@mail.ru

Гомоцистеин (ГЦ) – аминокислота, являющаяся составной частью обменных процессов, которые обеспечивают ряд важнейших для организма функций. Нарушение функций ГЦ приводит к повышению его уровня в плазме крови, включает повреждения эндотелия клеток, спонтанное возбуждение клеток тройничного нерва, результатом которого является воспаление в мозговых оболочках, расширение сосудов головного мозга, и, как предполагают, возникает боль, связанная с мигренью, что может увеличивать склонность пациента к развитию мигрени. Целью работы являлось исследование тактильной чувствительности в модели хронической мигрени у крыс с экспериментальной гипергомоцистеинемией (ГГц).

Эксперименты проводились на крысах линии Вистар обоих полов в возрасте 6–8 недель: контрольная группа крыс ($n=16$) от животных с нормальным содержанием Гц ($6,6\pm 0,9$ мкМ) в плазме и ГГц (опытная) ($n=17$) от животных с высоким уровнем Гц ($23,1\pm 3,5$ мкМ). Модель хронической мигрени создавали введением нитроглицерина внутривенно (10 мг/кг) в течение 9 дней с шагом в 1 день (5 раз). Тактильная чувствительность оценивалась с помощью теста «Волоски Фрея» до введения нитроглицерина и на 9 день (через 30 мин. после последней инъекции). Для определения порога кончиком нити прикасались к середине плантарной поверхности передней лапы и коже за вибриссами с усилием 5 раз. Последовательным перебором волосков с большей силой давления в граммах определяли порог тактильной чувствительности. Положительный ответ регистрировали при резком отдергивании лапы во время касания или убирании головы при воздействии на завибриссовую зону. Анализ проводился с помощью критерия Вилкоксона для связанных выборок (P_w), и критерия Манна-Уитни (P_u) для не связанных выборок.

Оценка показателей тактильной чувствительности до введения нитроглицерина выявила, что у ГГц группы пороговые значения для лап достоверно ниже ($0,103\pm 0,018$ г) по сравнению с контрольной группой ($0,335\pm 0,051$ г) ($P_u < 0,05$), показатели завибриссовой зоны также были меньше у ГГц группы и составили у контрольных $0,14\pm 0,05$ г и ГГц крыс $0,05\pm 0,008$ г ($P_u < 0,05$). Анализ влияния нитроглицерина на тактильную чувствительность показал, что пороговые значения у контрольной и опытной группы уменьшились. Так показатели завибриссовой зоны и передних лап контрольных животных снизились до $0,062\pm 0,09$ и $0,09\pm 0,027$ г соответственно ($P_w < 0,05$). Пороги чувствительности завибриссовой зоны ГГц животных уменьшилось до $0,024\pm 0,002$ г, а значение передних лап до $0,099\pm 0,027$ г ($P_w < 0,05$). Анализ между группами выявил так же понижение порога чувствительности завибриссовой зоны у крыс с ГГц ($P_u < 0,05$). У контрольной группы в завибриссовой зоне чувствительность выросла на 66%, а на лапах 72%. При этом чувствительность у ГГц группы увеличилась в завибриссовой зоне на 60% и на 10% для лап.

Таким образом, тактильная чувствительность у животных ГГц группы выше, чем у контрольных животных, как в завибриссовой зоне, так и передних лап. Эффект хронического введения нитроглицерина у контрольной группы в завибриссовой зоне был сопоставим с результатами ГГц группы. А увеличение чувствительности лап у ГГц группы был менее выражен, чем в контрольной группе. Полученные результаты свидетельствуют о различном влиянии нитроглицерина на тактильную чувствительность здоровых и животных с пренатальной ГГц.

Работа поддержана РНФ № 14-15-00618.

СРАВНЕНИЕ СПОСОБНОСТИ БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ УДЕРЖИВАТЬ TNF НА ПОВЕРХНОСТИ МАКРОФАГОВ И НЕЙТРАЛИЗОВАТЬ ЕГО БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Е. В. Важдаева, В. В. Мохонов, Е. А. Василенко, И. В. Астраханцева, Е. Н. Горшкова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;

kate.murom@yandex.ru

На сегодняшний день известно, что фактор некроза опухоли (TNF) играет важную роль в реализации иммунного ответа организмом. Однако чрезмерная продукция TNF является одним из ключевых факторов, оказывающим влияние на развитие хронических аутоиммунных заболеваний. Поэтому в настоящее время одним из перспективных подходов для терапии аутоиммунных заболеваний является использование селективных блокаторов TNF, которые способны блокировать данный цитокин только из определенных клеточных источников, в частности, клеток миелоидного ряда.

В лаборатории экспериментальной иммунологии института биологии и биомедицины ННГУ им. Н.И. Лобачевского под руководством акад. С.А. Недоспасова были созданы биспецифические антитела: BV1, VB1 и СТ. BV1 представляет собой многофункциональный агент на основе наноантител верблюда (VHH), способный связывать молекулу F4/80 на поверхности макрофагов и нейтрализовать TNF. VB1 – белок, аналогичный BV1, но характеризующийся обратной последовательностью доменов, связывающих TNF и F4/80. СТ состоит из двух функциональных доменов, один из которых способен блокировать биологическую активность TNF, а второй – связываться с молекулой CD11b на поверхности миелоидных клеток. Целью настоящей работы явилось сравнение функциональной активности созданных белков, а именно, определение их способности блокировать биологическую активность TNF и связывать его на поверхности макрофагов *in vitro*.

Оценку биологической активности доменов, блокирующих TNF, проводили *in vitro* с использованием клеток линии WEHI-164, которые характеризуются чувствительностью к человеческому TNF. Для этого клетки инкубировали с полученными биспецифическими антителами в концентрации 10 мг/мл, а затем добавляли TNF в концентрации от 9260 пг/мл до 0,018 пг/мл и инкубировали в течение ночи. Выживаемость клеток оценивали с помощью колориметрического МТТ-теста и анализировали с использованием фотометра Multiskan EX (Thermo Fisher Scientific, США). В качестве критерия эффективности работы блокатора рассматривался показатель IC50. Для антитела BV1 он составил $3,7 \cdot 10^3$ рМ, для VB1 – $66 \cdot 10^3$ рМ, для СТ – $187 \cdot 10^3$ рМ.

Для исследования способности биспецифических белков связывать макрофагальный TNF использовали метод проточной цитометрии. Для этого костномозговые макрофаги инкубировали с биспецифическими антителами BV1, VB1 и СТ в концентрации 10 мг/мл в течение 30 минут, затем клетки инкубировали с TNF (2 мкг/мл). Далее добавляли антитела Anti-Human TNFα-FITC (eBioscience, США) и анализировали на проточном цитометре Cytotflex S (Beckman Coulter, США).

В результате исследования наиболее высокий уровень флуоресцентного сигнала наблюдался для макрофагов, проинкубированных с белком BV1. Таким образом, было показано, что наибольшей эффективностью в отношении как связывания TNF на поверхности макрофагов, так и его блокировки, обладает биспецифическое антитело BV1, что делает его наиболее перспективным кандидатом на роль селективного блокатора TNF, экспрессируемого макрофагами.

Работа выполнена в рамках государственного задания (шифры проектов 20.6156.2017/9.10, 20.6159.2017/9.10, 20.6445.2017/9.10).

РОЛЬ ГЛЮКОЗЫ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ МЕТАБОЛИЗМЕ ВО ВРЕМЯ ГАММА-ОСЦИЛЛЯЦИЙ

А. А. Вазетдинова, Ф. Ф. Рахматуллина, А. В. Розов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
alina-vazetdinov@mail.ru

Быстрые колебания в диапазоне гамма-частот обеспечивают фундаментальный механизм комплексной обработки информации в нейрональной сети гиппокампа и неокортекса млекопитающих. Гамма-колебания связаны с более высокими функциями мозга, такими как сенсорное восприятие, двигательная активность и формирование памяти. Осцилляции возникают за счёт определенных синаптических взаимодействий между возбуждающими клетками и тормозными ГАМКергическими интернейронами, которые требуют высоких затрат энергии. Основным источником энергии является глюкоза. Однако исследования начала 1990-х годов поставили под сомнение идею о том, что энергетические потребности нервных клеток удовлетворяются исключительно глюкозой. Исследования *in vivo* и *in vitro* показали, что в условиях дефицита энергии глюкоза может заменяться лактатом и быть альтернативным источником энергии в мозге. Однако недавние эксперименты показали, что лактат в концентрации 10 мМ вызывает угнетение гамма осцилляций в гиппокампе и в последствии приводит к возникновению эпилепсии. В экспериментах использовались срезы головного мозга крыс разных возрастов (P14-P25). Path-clamp регистрация ионных токов проводилась от синаптически связанных нейронов (быстрospайкующая клетка-пирамидная клетка) CA3 области гиппокампа. Аппликация лактата в концентрации 10 мМ приводила к достоверному снижению амплитуды вызванных тормозных постсинаптических токов к 15 минуте эксперимента по сравнению с контрольными значениями ($0,35 \pm 0,12$, $n=5$, $p < 0,001$). Таким образом, полученные данные показывают, что замещение глюкозы лактатом приводит к серьёзному снижению перисоматического торможения, обеспечиваемого быстрospайкующими клетками и как результат – возникновению эпилептической активности. Можно сделать заключение о том, что глюкоза является наиболее подходящим субстратом для поддержания ритмической и синаптической активности гиппокампальной активности.

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета.

ПОВРЕЖДАЕМОСТЬ ДНК КЛЕТОК КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

И. А. Варганова, Е. А. Никанорова, В. И. Нагиба, Я. И. Медведев, К. Ю. Иванов

Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики, 607188,
Саров, просп. Мира, 37; gane@orb2.vniief.ru

Геном живых организмов подвергается постоянной атаке как различных физических (ультрафиолетовая и ионизирующая радиация) и химических (генотоксические и канцерогенные вещества) факторов окружающей среды, так и продуктов собственного метаболизма (свободные радикалы), которые могут повреждать ДНК клеток. Не будучи репарированными, повреждения ДНК могут инициировать каскад биологических реакций на клеточном, органном, организменном и популяционном уровне.

Одним из современных и весьма чувствительных методов регистрации повреждений ДНК и изучения репарации ДНК на уровне одиночных клеток является метод ДНК-комет (“Comet assay”). Использование щелочного варианта метода ДНК-комет позволяет оценивать, главным образом, выход одонитевых разрывов и щелочнолабильных сайтов.

Несмотря на то, что механизмы повреждения ДНК гамма-квантами и УФ-лучами отличаются, механизмы репарации одонитевых разрывов ДНК имеют много общего, кроме того, механизмы неспецифической резистентности организма должны работать с одинаковой интенсивностью независимо от природы действующего фактора.

Исследования проводили на клетках крови 6 здоровых доноров-добровольцев (средний возраст 25 лет), не имеющих профессионального контакта с вредными факторами. Уровень повреждений ДНК определяли методом электрофореза единичных клеток в геле (метод ДНК-комет). Для тестирующего гамма-облучения крови использовали аттестованный гамма-источник ^{60}Co с мощностью дозы 1 Гр/мин. Рассчитывали индекс репарации ДНК, показывающий скорость репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК в течение 30 и 60 минут.

УФ-облучение клеток крови проводили с помощью УФ-облучателя «Филипс» ($\lambda = 254$ нм) при мощности дозы 15 Дж/м²·с. Измеряли спонтанный уровень повреждений ДНК и остаточный уровень повреждений ДНК через 0, 30 и 60 минут после облучения.

В ходе проведенного анализа были выявлены сильные положительные корреляционные связи между индексами репарации повреждений ДНК, индуцированных гамма-излучением, и уровнем повреждений ДНК, вызванных эксцизией циклобутановых димеров нуклеиновых кислот после УФ-облучения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что по максимальной величине эксцизии через 30–60 минут после действия УФ-излучения можно судить об активности ферментативной системы репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК в целом.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНИМАЛЬНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ OSMY НЕОБХОДИМОЙ ДЛЯ СЕКРЕЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ КЛЕТКАМИ *ESCHERICHIA COLI*

Е. А. Василенко, Е. Н. Горшкова, И. В. Астраханцева, Д. В. Новиков, В. В. Мохонов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

kat802@rambler.ru

Клетки *Escherichia coli* – одна из самых простых и популярных систем для гетерологичной экспрессии белков. Однако приемы, позволяющие эффективно секретировать рекомбинантные белки из *E. coli*, к настоящему времени еще не разработаны. Широкомасштабный поиск внеклеточных белков показал, что *E. coli* секретирует в культуральную среду белок OsmY (Mr ~21 kDa). Предположительно, транспорт OsmY ассоциирован с Sec-системой *E. coli*, и фолдинг белка происходит в периплазматическом пространстве клетки. Это свойство позволяет использовать OsmY в качестве партнера для слияния с гетерологичными белками и их последующей секреции. Целью настоящей работы явился поиск минимальной последовательности OsmY, позволяющей эффективно секретировать белки в культуральную среду.

Для идентификации доменов, играющих роль в экстраклеточном транспорте, аминокислотная последовательность OsmY была разделена на серию перекрывающихся пептидов (позиции аминокислот: 29-114, 71-158, 115-201, 29-72, 50-93, 73-114, 94-135, 115-158, 135-178, 159-201), содержащих или не содержащих сигнальный пептид. Методами молекулярного клонирования эти последовательности были слиты с белком наружной мембраны *E. coli* OmpA в составе би-цистронной конструкции, позволяющей коэкспрессировать периплазматический шаперон DsbA, используемый для увеличения растворимости исследуемых белков. Слитые белки экспрессировали в штамме Rosetta2 (DE3) pLysS *E. coli*. Уровень секреции белков в культуральную жидкость оценивали методом Western blot. Анализ секреции слитых белков показал, что все пептиды OsmY способны направлять секрецию OmpA во внешнюю среду, но с разной эффективностью. Максимальный уровень секреции OmpA регистрировался при слиянии с пептидом 71-158, и был сходен с уровнем секреции при слиянии с полноразмерным OsmY, как содержащим, так и не содержащим лидерный пептид. Исходя из этого, можно предположить, что сигнал к экстраклеточному транспорту расположен между 71-158 аминокислотами белка OsmY, а лидерный пептид, вероятно, направляет локализацию белка в периплазматическое пространство клеток *E. coli*.

Таким образом, было показано, что минимальная последовательность OsmY, позволяющая использовать его в качестве потенциального партнера для гетерологичной экспрессии белков в клетках *E. coli*, должна содержать фрагмент 71-158 и нативную сигнальную последовательность, необходимую для транслокации белков в периплазматическое пространство.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №17-04-01137.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИММУНОТОКСИН ПРОТИВ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННОГО МУЦИНА 1

П. И. Васильчиков, А. Д. Перенков

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
eukarioshka@mail.ru

Таргетная иммунотерапия против опухолеассоциированных антигенов является интенсивно развивающимся направлением. В качестве действующего вещества используются молекулы, обладающие цитотоксическими свойствами, которые направленно доставляются к раковой клетке с использованием антител. Известно, что ротавирусный энтеротоксин NSP4 способен дестабилизировать мембрану и индуцировать апоптоз в линиях клеток колоректального рака (HT-29) и рака тела матки (HeLa). Целью данной работы явилось исследование действия иммунотоксина, сконструированного на основе одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFv) антител против опухолеассоциированного Муцина 1 (MUC1) слитых с NSP4, на раковые клетки.

С использованием нуклеотидных последовательностей scFv против MUC1 и NSP4 методом ПЦР был получен фрагмент кДНК, кодирующий иммунотоксин (scFv слитый с фрагментом NSP4 через гибкий серин-глициновый линкер). Данный иммунотоксин был экспрессирован в *Escherichia coli*. Очистка рекомбинантного белка проводилась методом металл-хелатной аффинной хроматографии в денатурирующих условиях, после чего была произведена ренатурация с помощью диализа. Экспрессию MUC1 в раковых клетках определяли методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Специфическое взаимодействие с клетками опухолевых линий человека (Colo-205, MCF-7, Caco-2), оценивали методом проточной цитометрии с использованием белка scFv-NSP4, конъюгированного с флуоресцентной меткой Cy-5. Цитотоксическую активность определяли методом МТТ.

Цитометрический анализ показал, что scFv-NSP4 взаимодействовал с 99% и 98% MUC1-позитивных клеток линий Colo-205 и MCF-7 соответственно. Флуоресценция MUC1-негативных клеток линии Caco-2, регистрировалась лишь в 0,3% случаев. Представленные данные свидетельствуют, что иммунотоксин scFv-NSP4 специфически взаимодействует с раковыми клетками, экспрессирующими MUC1. МТТ-тест показал наличие цитотоксической активности scFv-NSP4 против MUC-1-позитивных опухолевых клеток (Colo-205, MCF-7) и отсутствие влияния на рост клеток Caco-2. При этом для обеих культур полуметальная доза (LD₅₀) scFv-NSP4 совпадала.

Таким образом, была синтезирована генетическая конструкция рекомбинантного иммунотоксина scFv-NSP4 против опухолеассоциированного MUC1, получен чистый препарат белка в активной форме, установлено наличие специфического взаимодействия scFv-NSP4 с MUC-1 позитивными опухолевыми клетками человека, а также наличие избирательной цитотоксической активности против MUC1-позитивных опухолевых клеток. Дальнейшим этапом исследования станет тестирование препарата на лабораторных животных.

ГРАНУЛЕМАТОЗНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ ТОНКОЙ КИШКИ У АМФИБИЙ

А. А. Ведерников, А. О. Свинин, Г. П. Дробот

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
aa.vedernikov90@gmail.com

Материал собран в ходе биомониторинговых исследований в 2010–2011 гг. и в 2017 г. в лесопарке «Сосновая роща» и микрорайоне «Чихайдарово» в Йошкар-Оле (Республика Марий Эл). У особей озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* были обнаружены шаровидные или грибовидные образования, которые локализовались в основном на тонкой кишке. Чаще всего данные образования располагаются группами или поодиночке в области верхней части двенадцатиперстной кишки или пилорического отдела желудка, реже на тощей и подвздошной кишке, единичные случаи отмечены для толстой кишки и клоаки. Образования характеризуются различными размерами, плотной консистенцией.

Указанные образования были подвергнуты гистологическому исследованию, для чего выделялись вместе с частью окружающих тканей и фиксировались в 10% растворе формалина. Толщина срезов составляла 5 мкм, обзорное окрашивание проводилось гематоксилин-эозином по стандартной методике.

Внешне одинаковые образования при гистологическом исследовании оказались морфологически неоднородными. В ряде случаев внутри образований на кишке наблюдаются безказеозные эпителиоидно-клеточные гранулемы, содержащие макрофаги и единичные клетки Пирогова-Ланханса. Общее расположение клеток в пределах гранулем различно: от очень рыхлого до компактного, очень плотного. Гранулемы часто характеризуются выраженной лейкоцитарной инфильтрацией со значительным преобладанием эозинофилов. В центрально расположенных клетках гранулем иногда обнаруживается зернистый распад цитоплазмы, сморщивание ядер или ядерный детрит. Периферия гранулем не всегда четко очерчена, но в большинстве случаев выражена хорошо, может содержать лимфоцитарную узкую «манжету» и мелкие клетки вытянутой формы, напоминающие фибробласты.

В одном из гистологических срезов внутри образований на кишке была обнаружена трематода *Brandesia turgida*, которая полностью заполняла собой все образование. Достаточно хорошо различимы ротовая и брюшная присоски, а также массивный яичник, заполненный вытянутыми, овальной формы яйцами, которые неоднородно окрашивались красителем, что может свидетельствовать об их разной степени зрелости. Стоит отметить, что в обоих наблюдаемых случаях не наблюдается видимого повреждения стенок тонкой кишки, образования располагаются латеральнее, кнаружи от мышечного слоя.

Таким образом, можно предположить, что причиной появления шаровидно-грибовидных образований на тонкой кишке амфибий могут служить трематоды *B. turgida*, наличие которых вызывает ответную реакцию организма, приводящую к гранулематозному воспалению.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЕНОЗА ЭПИБИОНТОВ ПРИБРЕЖНЫХ МАКРОФИТОВ ЧЕРНОГО МОРЯ (НА ПРИМЕРЕ *CYSTOSEIRA* SP.)

А. Е. Вирченко¹, М. В. Макаров², Р. М. Сабиров¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; ale-virchenko@yandex.ru

²Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, просп. Нахимова, 2

Изучение структуры сообществ макроэпибионтов (животного населения макрофитов) в прибрежье имеет важное индикаторное значение и позволяет определять экологическое состояние прибрежной зоны водоемов. Бурые водоросли *Cystoseira* sp. растут в экологически чистых, хорошо аэрированных акваториях. В районах с техногенными загрязнениями цистозира находится в угнетённом состоянии. Так же изменяется структура сообществ эпибионтов. Цель наших исследований – изучение видовой структуры и количественных показателей эпибионтов водорослей *Cystoseira* sp. в окрестностях мыса Фиолент у побережья Севастополя.

Материалом исследования послужили сборы макроэпибионтов с талломов водорослей *Cystoseira* sp., собранные в сублиторали у мыса Фиолент 03.07.2017 на глубинах от 0,5 до 2,5 м. Всего взято 8 проб на 2 станциях. Пробы отобраны по стандартной методике (Макавеева, 1979). Бентос разбирали по таксономическим группам и идентифицировали до вида (макрозообентос), мейобентос до вида не идентифицировали. Численность и биомассу зообентоса рассчитывали на единицу массы водорослей. Сообщество выделяли на основании индекса функционального обилия (ИФО), равный $N^{0,25} \cdot B^{0,75}$, где N – численность, экз./кг, B – биомасса макрозообентоса, г/кг (Мальцев, 1990).

Акватория Фиолента считается относительно чистой с небольшой рекреационной нагрузкой. Она удалена от крупных портов и промышленных районов. Находится в юго-западном Крыму в южной части Севастопольского региона. Всего обнаружено 24 вида эпибионтов, относящихся к 4 типам: Cnidaria, Annelida, Mollusca и Arthropoda. Преобладают членистоногие – 11 видов, а также Acari gen. sp. и Harpacticoida gen. sp. Такая структура типична для эпибионтов цистозир. Средняя численность эпибионтов цистозир составила 9501 ± 544 экз./кг. Самым многочисленным видом в зарослях цистозир оказался двустворчатый моллюск *Mytilaster lineatus* – 6555 экз./кг и 33,308 г/кг по биомассе. Среди Gastropoda преобладает *Rissoa splendida*. Данный моллюск – типичный и массовый вид зарослевых сообществ в прибрежной зоне Крыма. Однако, в начале 2000-х гг. он уступал по численности и биомассе другим видам гастропод – *Bittium reticulatum* и *Tricolia pullus*, но в последние годы стала восстанавливаться (Макаров, 2016). В наших пробах *B. reticulatum* и *T. pullus* были обнаружены, но в малых количествах, особенно биттиум. По ИФО нами выделено сообщество *M. lineatus*. Одноименное сообщество эпибионтов цистозир распространено и в некоторых других районах вдоль крымского побережья, в частности в акваториях заповедника мыс Мартыан (Южный берег Крыма) и бухты Двужкорной (Юго-восточный Крым) (Макаров и др., 2017). В целом, эпибионты водорослей цистозир в районе Фиолента насчитывает 24 вида животных. Средняя численность составила 9501 ± 544 экз./кг, средняя биомасса $55,984 \pm 2,586$ г/кг. На основании ИФО выделено сообщество *M. lineatus*, что вполне типично для эпибионтов цистозир у берегов Крыма.

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

К. М. Власова, С. В. Копылова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ksyuhavlasov@rambler.ru

Печень является жизненно важным органом, выполняющим функции, направленные на поддержание гомеостаза в организме. В настоящее время летальность при заболеваниях печени по данным ВОЗ достигает 70–90%. Гепатотоксичные агенты, поражая печень, оказывают повреждающее действие и на другие органы – почки, сердце, легкие, страдают кроветворная и другие системы организма. Не смотря высокие достижения современной медицины в вопросе лечения острой печеночной недостаточности, изучение данной патологии по-прежнему является актуальным направлением. Разработка новых моделей острой печеночной недостаточности позволит совершенствовать и дорабатывать существующие методы лечения данного синдрома.

Исследования проводились на самках здоровых белых крыс линии Wistar, средней массой 200–250 г. Животные были разделены на группы: 1 группа – интактные животные, 2 группе моделировали острую печеночную недостаточность путем внутрибрюшинного введения 0,12 г/кг инъекционного раствора парацетамола. Доза вещества была выбрана основываясь на данных по токсической дозе парацетамола. С лабораторными животными работали в соответствии с действующими «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных». Определение показателей, характеризующих функциональное состояние печени, осуществляли через 10 суток после начала эксперимента. Забор крови производили путем декапитации наркотизированных животных. Статистическую обработку полученных данных осуществляли на персональном компьютере с помощью программы BIOPSTAT с использованием t-критерия Стьюдента с предварительной оценкой на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p \leq 0,05$.

Через 10 суток после моделирования острой печеночной недостаточности, в опытной группе наблюдалось достоверное уменьшение показателя общего белка и альбумина в сыворотке крови (на 15% и 49% соответственно). Гипопротеинемия, и, в частности, альбуминемия обусловлены уменьшением синтеза белков в печени, что может быть связано с уменьшением количества гепатоцитов или ухудшением их функциональной способности. Уровень креатинина в сыворотке крови опытных животных увеличился на 11% по сравнению с группой «интактные животные». Показатель мочевины в сыворотке крови опытной группы остался примерно на том же уровне, что и у группы «интактные животные». Активность АЛТ и АСТ уменьшилась на 33%. Снижение активности аминотрансфераз вероятнее всего связано с уменьшением количества клеток, синтезирующих данные ферменты.

Таким образом, при разработанной нами экспериментальной модели наблюдалось снижение белково-синтетической функции гепатоцитов в результате угнетения каталитической активности мембраносвязанных ферментов, а также было отмечено нарушение на конечных этапах катаболических изменений белковых тел в печени, связанных с нарушением реакций дезаминирования, что является симптомами острой печеночной недостаточности.

ГРИБЫ-ПАЗАРИТЫ ДЕРЕВЬЕВ И КУСТАРНИКОВ ОТДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ САВИНСКОГО РАЙОНА ИВАНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Н. А. Власова, Л. Ю. Минеева

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;
natulek95_vlas95@mail.ru

Грибы – одна из крупнейших и разнообразнейших групп эукариотных гетеротрофных организмов с осмотрфным способом питания, являющаяся неотъемлемой частью всех водных и наземных экосистем. Грибы могут быть паразитами и вызывать заболевания у различных организмов, в том числе и у растений. Изучение патогенных грибов может способствовать сохранению видового разнообразия деревьев и кустарников в дикой природе, сохранению эстетического вида и урожайности культурных растений, а также сохранению пород деревьев, чья древесина представляет ценность.

Целью работы стало изучение патогенных грибов деревьев и кустарников на отдельных территориях Савинского района Ивановской области. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: выявить видовое разнообразие грибов-паразитов деревьев и кустарников в районе исследования и провести таксономический анализ, определить типы болезней, их симптомы и биологические особенности грибов, изучить разнообразие растений-хозяев, проанализировать органотропную специализацию патогенных грибов.

Изучение патогенных грибов деревьев и кустарников на территории Савинского района Ивановской области проводилось в июне-августе 2015 г. и июне-октябре 2016 г. В ходе маршрутов осуществлялись сбор исследуемых объектов, этикетирование и последующая гербаризация. Определение возбудителей болезней и растений-хозяев проводилось в лаборатории с использованием микроскопа по определителям.

Всего в ходе исследования было собрано и определено 24 вида патогенных микромицетов, относящихся к 3 отделам и 8 семействам. Самым многочисленным стал отдел Basidiomycota (50%, 12 видов), семейства Melampsoraceae и Erysiphaceae (по 25%, 6 видов каждый). Собраный материал оказался поражен различными типами заболеваний. Преобладающим среди них стала ржавчина (42%, 10 видов). Питающие деревья и кустарники, собранные в результате исследования, составили 21 вид, относящийся к 10 семействам: из них одно из отдела голосеменные класса хвойные и девять – из отдела покрытосеменные класса двудольные. Больше всех патогенных грибов было обнаружено на представителях семейства Salicaceae (25%, 5 видов). Грибы-паразиты обнаружены на древесных и кустарниковых породах почти в равном соотношении – 55% и 45% соответственно.

РЕАКЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ СТРЕССЕ

Л. А. Воронина, Г. А. Скворцова, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lyuba.cotic.voronina@mail.ru

Целью работы было изучение влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на морфологические, электрокинетические показатели эритроцитов и активность в них окислительных процессов при моделировании стресса у животных.

Стресс-реакцию моделировали внутрибрюшинным (в/б) введением адреналина крысам. Было сформировано 4 группы: 1 группа – крыс облучали НИЛИ 10 минут в области теменной доли; 2 группа – в/б вводили адреналин в концентрации 0,1 мг/кг, 3 группа – в/б вводили адреналин (0,1 мг/кг), а затем через 30 минут облучали НИЛИ. Контролем служили интактные животные (4 группа). Забор крови производили из подъязычной вены через час, сутки и неделю после воздействия. Во всех сериях была изучена морфология и диаметр эритроцитов методом эритроцитометрии, концентрация малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах фотометрическим методом, электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) методом микроэлектрофореза.

Введение адреналина крысам приводило к снижению ЭФПЭ, повышению концентрации МДА по отношению к значениям интактной группы. Облучение крыс НИЛИ определило фазный рост ЭФПЭ сопряженный с уменьшением концентрации МДА. При облучении НИЛИ крыс с адреналовой токсемией наблюдалось постепенное увеличение ЭФПЭ и снижение концентрации МДА относительно показателей, полученных у крыс при действии адреналина. Абсолютные значения изменения ЭФПЭ и концентрации МДА были существенно меньше по сравнению с показателями, полученными при действии адреналина.

Адреналин вызывал усиление процессов липопероксидации, что отразилось на модификации формы эритроцитов и их размеров. Действие НИЛИ на фоне адреналина вызывало уменьшение стоматоцитов и дегенеративно-измененных клеток до уровня интактных животных к 1 неделе эксперимента, тогда как при действии адреналина их значения оставались повышенными. Исследование размера эритроцитов выявило, что при воздействии адреналина на крыс возросло количество микроцитов и макроцитов. Преобладали эритроциты с меньшим диаметром. Количество эритроцитов с нормальным диаметром полностью восстановилось лишь спустя неделю. В группе НИЛИ после альтерации, изменения в размере эритроцитов были сопоставимы с действием адреналина. Наблюдаемый анизоцитоз, вероятно, обусловлен действием адреналина как стрессового фактора, который определяет выброс эритроцитов из депо крови.

Анализ результатов свидетельствует, что при действии НИЛИ наблюдалось восстановление морфологии эритроцитов, электроотрицательности мембраны и окислительных процессов в эритроцитах, выявленных при моделировании стресса у животных. Данные процессы, вероятно, связаны с восстановлением гомеостаза клеток крови, что имеет позитивное действие при стрессе, обусловленное улучшением микроциркуляции.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ БЛОКАДЫ ТИРОЗИН КИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА В-ТИПА НА КАЛЬЦИЕВУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ

Н. В. Воронова¹, Е. В. Митрошина^{1, 2}, Т. А. Мищенко^{1, 2}, А. В. Усенко¹, М. В. Ведунова¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
voron.dzr@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) - представитель семейства нейротрофинов, который регулирует рост и развитие головного мозга в эмбриогенезе, а также образование и поддержание нормального функционирования нейронных сетей в постнатальном периоде. Наибольшей аффинностью к нейротрофическому фактору BDNF имеет тирозинкиназный рецептор В-типа. Взаимодействие BDNF с TrkB-рецептором запускает нескольких сигнальных механизмов, обеспечивающих действие нейротрофического фактора на синаптическую передачу сигнала в клетке, а также поддержание жизнеспособности нервных клеток. Однако большая часть работ посвящена изучению краткосрочных эффектов действия нейротрофинов. Целью данного исследования является изучение эффектов, оказываемых хронического введения BDNF и селективного блокатора тирозинкиназного рецептора В-типа ANA-12 на формирование спонтанной кальциевой активности нейронных сетей в первичных культурах гиппокампа мыши.

Объектом исследований *in vitro* служили первичные культуры клеток гиппокампа, полученные от 18-дневных мышинных эмбрионов линии СВА. Ежедневное добавление в среду культивирования нейротрофического фактора BDNF (1нг/мл), блокатора ANA-12 (1 мкМ/ml) и их совместная аппликация, осуществлялось, начиная с 3 дня развития культур *in vitro*. На 7, 10 и 14 день после начала курса добавления исследуемых веществ проводилась регистрация спонтанной кальциевой активности первичных культур клеток гиппокампа с помощью флуоресцентного кальциевого имиджинга. В качестве кальциевого сенсора применялся Oregon Green 488 AM.

Как было показано в предыдущих исследованиях, в ходе онтогенеза первичных культур гиппокампа все больше клеток вовлекается в нейросетевую активность, возрастает частота кальциевых осцилляций и к 14 дню формируется сетевая кальциевая активность. При хроническом введении ANA-12 на 10 день процент клеток, проявляющих кальциевую активность, в 1,62 раза меньше, чем в интактных. Выявленный эффект имеет необратимый характер, на 14 DIV активность остается сниженной. В группе BDNF+ANA12 процент работающих клеток сопоставим с группой с аппликацией BDNF – на 10 день. На 14 день регистрации доля клеток, проявляющих активность в интактных культурах, составила $62,77 \pm 3,84\%$. Хроническое введение BDNF вызвало достоверное усиление сетевой активности, доля работающих клеток составила $79,39 \pm 2,52\%$. В группах ANA12 и с ANA12+BDNF данный показатель составил $36,38 \pm 6,06\%$ и $50,1 \pm 5,67\%$ соответственно. У группы с ANA12 частота к 14 дню стала достоверно ниже, чем в интактной группе ($0,81 \pm 0,05$ осц/мин и $1,56 \pm 0,08$ осц/мин соответственно).

Таким образом, хроническое применение нейротрофического фактора BDNF способствует усилению сетевой кальциевой активности первичных культур гиппокампа, а хроническая блокада TrkB-рецепторов приводит к угнетению спонтанной кальциевой активности нейронных сетей.

ПРОДУКТЫ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ ИЗ ПРИРОДНЫХ ВЫСОКОКРЕМНИСТЫХ ПОРОД ПОД ДЕЙСТВИЕМ АЭРОБНЫХ АММОНИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

А. А. Воронцова, Д. В. Акафьева, А. В. Козлов

Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы Минина, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1; *a_v_kozlov@mail.ru*

В прикладных исследованиях современного почвоведения известны факты положительного действия природных высококремнистых материалов, вносимых в почву в качестве удобрительных веществ. Однако процессы их взаимодействия с веществом почвы в настоящее время изучены недостаточно, ровно так же, как и процессы биохимического превращения, осуществляемые под действием наиболее стабильных микробных консорциев почв, входящих в зимогенную экологическую нишу – аминокетотрофов.

В рамках настоящих исследований целью явилось изучение динамики численности клеток, а также содержания различных веществ в бактериальной суспензии – продуктов биохимического выщелачивания породной массы диатомита, цеолита и бентонитовой глины.

Накопительную культуру комплекса аммонифицирующих бактерий получали путем засева стерильного жидкого варианта мясопептонного агара навеской подготовленной почвы и культивирования бактериальной биомассы в термостате в течение 7 суток при температуре +26°C. Затем производился засев испытуемых пород полученными бактериальными комплексами. Засеянные колбы помещались в термостат и культивировались при +26°C в течение 30 суток; 2 раза в сутки содержимое колб встряхивалось в течение 1-го часа. Через определенные интервалы времени (на 1, 3, 5, 7, 10, 12, 15, 20, 25 и 30 день) производили химические замеры содержимого колб. В системе «порода-культура» определялось содержание растворимых соединений фосфора и кремния спектрофотометрическим методом; содержание растворимого кальция определялось комплексонометрическим титрованием с трилоном Б по традиционным химико-аналитическим прописям.

Численность живых клеток определяли также в 30-дневной динамике культивирования аммонификаторов с веществом пород с помощью люминесцентной микроскопии с акридином оранжевым на микроскопе «БиоТех-330-LED2-Tr». Определение общей минерализации бактериальной суспензии проводили кондуктометрическим методом с помощью кондуктометра DIST-3 HANNA. Исследования проведены в 2017 году на базе лабораторных комплексов Мининского университета.

Было установлено, что наибольшая численность бактерий-аминокетотрофов пришлась на 10 день культивирования суспензий, которая на варианте с диатомитом составила $4,752 \cdot 10^9$ клеток/1 мл. На варианте с бентонитовой глиной она оказалась на среднем уровне – $3,204 \cdot 10^9$ клеток/1 мл, а на варианте с цеолитом – на минимальном ($3,020 \cdot 10^9$ клеток/1 мл). При дальнейшем культивировании количество живых клеток в системе «порода-культура» плавно спадало и на 30 день составило $4,031 \cdot 10^6$, $12,263 \cdot 10^6$ и $88,509 \cdot 10^6$ клеток/1 мл соответственно на варианте с диатомитом, цеолитом и бентонитовой глиной. Показатель общей минерализации, характеризующий степень бактериального выщелачивания вещества пород, менялся как в зависимости от вида материала, так и от времени анализа. Например, деятельность аммонифицирующих бактерий была наиболее активна в отношении диатомита – высвобождение в растворимое состояние солей химических элементов достигало 510 мг/мл. Наименьшая биохимическая активность прослеживалась по отношению к цеолиту, где максимальное содержание растворимых форм химических элементов в культуре не превышало и 403 мг/мл. Также нужно отметить, что пики наибольших концентраций солей в бактериальных суспензиях приходились на 10–20 день культивирования в зависимости от породы и самой бактериальной культуры.

**РЕГИСТРАЦИЯ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ АНТИСТОКСОВЫХ
НАНОФОСФОРОВ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *IN VITRO* В БЕСФОНОВОМ РЕЖИМЕ**
***А. Д. Воротнов*¹, *А. Б. Костюк*¹, *Л. М. Сенча*¹, *А. В. Круглов*¹, *Е. Л. Гурьев*¹, *А. В. Звягин*¹⁻³**

¹ Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *a.r.t.e.s@mail.ru*

² Сеченовский университет, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8

³ Университет Маккуори, 2109, Австралия, Сидней, Балаклава-роуд

Наноразмерные антистоксовые фосфоры (НАФ) нашли широкое применение в качестве контрастирующих агентов и успешно применяются в исследованиях, проводимых как на клеточных культурах *in vitro*, так и на модельных животных *in vivo*. Одной из наиболее распространенных матриц НАФ является фторидная матрица NaYF_4 , солегированная ионами иттербия и эрбия или тулия. В результате комплекса сложных процессов преобразования энергии при поглощении нескольких квантов света ИК-диапазона НАФ способны излучать свет в видимом и ближнем ИК-диапазонах. При этом устойчивость к фотовыцветанию и химической деградации, узкие пики фотолюминесценции (ФЛ) и значительный антистоксовый сдвиг данных пиков относительно возбуждающего излучения, являются их преимуществами по сравнению с традиционными красителями.

При визуализации НАФ более предпочтительными являются широкопольные оптические методы, в которых подавление автофлуоресценции биологических объектов и рассеянного лазерного излучения эффективно осуществляется с помощью оптических фильтров. Однако, регистрация дискретных НАФ зачастую затруднительна в таких схемах из-за присутствия в исследуемом образце крупных кластеров НАФ, чей сигнал ФЛ более яркий, а их рассеянное излучение маскирует сигнал от дискретных НАФ.

В данной работе для бесфоновой визуализации дискретных НАФ был использован метод лазерной сканирующей микроскопии, который позволяет снизить влияние фонового свечения крупных кластеров НАФ, благодаря последовательной регистрации ФЛ от малых точек образца. При этом подавление автофлуоресценции биологических объектов обеспечивается путем реализации отложенной регистрации ФЛ с помощью метода счета фотонов с временной корреляцией (TCSPC). В данной схеме записываются только те фотоны, которые прибыли на детектор в заданный временной интервал после лазерного импульса. Таким образом, благодаря более длительному времени жизни возбужденного состояния НАФ (~ 40 мкс) по сравнению с типичными эндогенными флуорохромами (~ 3 нс), регистрируются только фотоны, исходящие от НАФ.

Для демонстрации предложенного подхода нанокристаллы NaYF_4 , солегированные 20% Yb^{3+} и 8% Tm^{3+} , покрытые полиэтиленгликолем были проинкубированы с клетками аденокарциномы молочной железы человека SK-BR-3. Импульсное возбуждение нанокристаллов $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}$, интернализированных в клетки SK-BR-3, осуществлялось титан-сапфировым лазером на длине волны 975 нм. Регистрация ФЛ НАФ осуществлялась в широком диапазоне 400-842 нм. Показано, что применение метода отложенной регистрации ФЛ НАФ обеспечивает подавление автофлуоресценции клеток SK-BR-3 при регистрации сигнала с задержкой 10 нс после лазерного импульса и экспозицией 2 нс в режиме накопления сигнала. В результате применения данного подхода отношение сигнал к шуму (SNR) увеличивается более чем в три раза.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (проект 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проект № 18-34-00723).

ВЗАИМОСВЯЗЬ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH, МЕТАБОЛИЧЕСКИХ КОФАКТОРОВ И АКТИВАЦИИ КАСПАЗЫ-3 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ВО ВРЕМЯ АПОПТОЗА ***А. И. Гаврина*^{1, 2}, *Т. Ф. Сергеева*², *В. В. Дуденкова*^{1, 2}, *О. А. Злобовская*³, *Е. Е. Зеленова*², *М. В. Ширманова*²**

¹ Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

² Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Динамические изменения внутриклеточного pH (pHi) и окислительно-восстановительного статуса опухолевых клеток в процессе апоптоза в настоящее время остаются мало изучены. Возможность мультипараметрического подхода к изучению ответа опухолевых клеток на химиотерапию открывает перспективы для индивидуального подбора терапии и, как следствие, более эффективного лечения рака. Цель работы – изучение взаимосвязи активации каспазы-3, метаболических изменений и внутриклеточного pH при терапевтическом воздействии на опухолевые клетки.

В экспериментах использовали клеточную линию СТ26, стабильно экспрессирующую FRET-сенсор активации каспазы-3, mKate2-DEVD-iRFP, и СТ26, стабильно экспрессирующую mKate2-DEVD-iRFP и pH-сенсор, SypHer1. В качестве противоопухолевых препаратов были выбраны таксол (100 нМ) и цисплатин (8,4 мкМ). Для получения изображений использовали лазерный сканирующий микроскоп Carl Zeiss LSM 880 (Carl Zeiss, Германия), укомплектованный FLIM системой для времязрешенной микроскопии (Becker&Hickl Ltd., Германия). Анализ времени жизни флуоресценции проводили в программе SPCImage 5.0 (Becker&Hickl Ltd., Германия).

Исследование действия таксола на активность каспазы-3 показало, что он способен индуцировать апоптоз опухолевых клеток линии СТ26, стабильно экспрессирующих генетически кодируемый сенсор активации каспазы-3, mKate2-DEVD-iRFP. Уже через 2,5 часа после добавления таксола в большинстве клеток регистрируется увеличение времени жизни флуоресценции mKate2 до $1,98 \pm 0,03$ нс, что указывает на активацию каспазы-3, при этом в клетках не выявлено изменений во времени жизни флуоресценции и амплитуде свободной и связанной форм НАД(Ф)Н.

Было установлено, что цисплатин вызывает апоптоз опухолевых клеток обеих тестируемых линий. Отмечено появление отдельных апоптотических клеток через 24 часа после воздействия цисплатина, наблюдалось увеличение времени жизни флуоресценции mKate2 до $1,96 \pm 0,25$ нс, что свидетельствует об активации каспазы-3 и запуске процесса апоптоза. В апоптотических опухолевых клетках СТ26 было выявлено статистически значимое уменьшение амплитуды свободной компоненты НАД(Ф)Н до 77,50% через 24 часа после воздействия цисплатина, что указывает на более высокую активность окислительного фосфорилирования относительно гликолиза и является ранним признаком апоптоза при химиотерапии цисплатином. Так же наблюдался рост внутриклеточного pH через 30 минут с последующим снижением. При этом через 24 часа регистрировалось резкое увеличение pHi с последующим закислением (ниже исходного уровня) через 48 часов лечения. При этом в апоптотических клетках через 4–6 часов после воздействия выявлены более низкие значения pH на 0,05–0,1 единицу pH в сравнении с неапоптотическими клетками.

Было установлено, что по активности каспазы-3, внутриклеточному pH и метаболическим изменениям можно судить о реакции опухолевых клеток на лечение и о механизме действия химиопрепаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-25-00129П).

РЕКОМБИНАНТНЫЙ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫЙ ВЕКТОР КАК СПОСОБ ДОСТАВКИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА НЕЙРОТРОФИНА

М. С. Гавриш, С. А. Тутукова, Е. А. Епифанова, А. А. Бабаев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mary_gavrish@mail.ru

Среди многих функций нейротрофинов описывается и их роль в широком спектре явлений, регулирующих деятельность как периферической, так и центральной нервных систем. Основным принято считать их участие в контроле физиологического развития нейронов, а также их дальнейшей фенотипической дифференциации. Особый интерес вызывает нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), способный стимулировать рост нейронов и их отростков не только в раннем онтогенезе, но и в мозге взрослого организма, что ранее считалось невозможным. BDNF оказывает и нейропротекторное действие – препятствует или замедляет повреждение тканей мозга, а также стимулирует восстановление нейронов и их окружения, что позволяет рассматривать его в качестве перспективного терапевтического агента для коррекции ишемических и нейродегенеративных процессов в нервной ткани.

Доставка целевого гена будет осуществляться при помощи рекомбинантного аденоассоциированного вирусного вектора. Для оценки эффективности трансдукции в вектор внедрен ген mKate2.7 – мономерного дальнекрасного флуоресцентного белка, сигнал которого легко отделяется от фоновой флуоресценции, что позволит использовать сконструированный вектор совместно с другими агентами для комплексного наблюдения процессов в культурах и тканях.

В ходе работы была подобрана система праймеров mKate2.7-BamHI-fw и mKate2.7-EcoRV-rv, в последовательности которых внесены сайты узнавания для рестриктаз. Также были определены температуры и время реакции, позволяющие амплифицировать олигонуклеотидную последовательность флуоресцентного белка. Полученная последовательность и плазмидный вектор pAAV-Syn-BDNF подвергались обработке рестриктазами EcoRV и BamHI, а затем лигированию. Нарботанный рекомбинантный шаттл-вектор очищали из клеток *E. coli*, а наличие клонируемого фрагмента было подтверждено с помощью PCR и рестрикционного анализа. Сборку аденоассоциированного вектора осуществляли в клеточной линии HEK 293 TF при помощи хелперных плазмид – DJ vector и pHelper, несущих гены Rep и Cap, которые не содержатся в шаттл-векторе, но обеспечивают правильное формирование вируса. Трансфекцию проводили с использованием PEI. Затем вирусные частицы очищали, а концентрирование вируса осуществляли на колонках Amicon Ultra-15 (Millipore).

Тестирование полученного конструкта проводили на клеточной линии HEK 293 TF. Эффективность трансдукции оценивали при помощи иммуоцитохимического окрашивания на присутствие BDNF в культуре.

В результате данной работы была сконструирована генно-инженерным путем шаттл-плазида, несущая гены BDNF и mKate2.7. С использованием хелперной системы собран и протестирован аденоассоциированный вектор под специфическим синапсным промотором.

СОЗДАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS* В ОТНОШЕНИИ ФИТОПАТОГЕНОВ

Л. И. Гарипова

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
garipovan71@mail.ru

В наше время в борьбе с фитопатогенными микроорганизмами лидирующую позицию занимают химические пестициды. В связи с тем, что ядохимикаты отрицательно влияют как на здоровье человека, так и на состояние окружающей среды, начались разработки технологий по получению биопрепаратов на основе микроорганизмов. Использование микроорганизмов вместо химических пестицидов для разработки и создания биопрепаратов показывает высокую эффективность.

Целью работы является поиск штаммов рода *Bacillus* с высокой антагонистической активностью. В работе решались следующие задачи: 1) скрининг изолятов *B. subtilis*, выделенных из ризосферы картофеля, на антагонистическую активность; 2) характеристика антагонистической активности изолятов *B. subtilis* в отношении различных фитопатогенных микромицетов.

Для культивирования бактерий использовали среды МПБ и МПА. Для культивирования микромицетов использовали среду Чапека. Для исследования антагонистической активности бактерий использовали метод: исследуемые бактерии засеивали газоном на поверхность среды МПА и культивировали при температуре +37°C и +28°C в течение 24 часов. Вырезали сверлом блоки агара с выросшей культурой и помещали на поверхность среды Чапека, засеянной газоном тест-культурой микромицета. Посевы инкубировали в течение нескольких суток и оценивали антагонистическую активность по величине зоны подавления роста тест-культуры вокруг блока с бактерией-антагонистом.

В настоящей работе были исследованы новые 15 штаммов *B. subtilis*, выделенные из ризосферы картофеля. Об антагонистической активности судили по величине зон подавления роста микромицетов вокруг блоков с бактериями.

Таким образом, для дальнейших исследований отобраны 6 штаммов *B. subtilis* (6–9, 14, 15), проявивших наибольшую антагонистическую активность в отношении микромицета *Fusarium avenaceum*.

РАЗНООБРАЗИЕ INSECTA В ЦЕНОПОПУЛЯЦИЯХ *QUERCUS ROBUR****Т. С. Герасимова, Н. В. Турмухаметова***Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина 1;
tanyapan95@gmail.com

Целью работы является определение состава Insecta в консорциях ценопопуляций дуба черешчатого (*Quercus robur*). Исследование проводили в 2016 г. на территории Республики Марий Эл: Сернурский район и г. Йошкар-Ола. Детерминантом энтомоконсорций являются деревья *Quercus robur* разного онтогенетического состояния: имматурного (im) и средневозрастного генеративного (g2). Сбор насекомых проводили стандартными методами: стряхивание, кошение энтомологическим сачком, захват отдельных особей. В ходе работы также были использованы почвенные ловушки, которые устанавливались к пристволовой части деревьев. Проводили анализ повреждений листьев, по которым можно было определить насекомого-филлофага.

В результате проведенного исследования было обнаружено 114 видов насекомых. На долю растительноядных насекомых приходится 43%, зоофагов – 47%, пантофагов – 10%. В энтомокомплексах доминируют представители Coleoptera – 47% видов. Среди растительноядных насекомых доминировали представители Curculionidae, Apionidae и Elateridae, среди хищных – Coccinellidae. В изученной ценопопуляции на территории Сернурского района были обнаружены виды *Pterostihus*, *Poecilus*, *Carabus*, *Harpalus* (Carabidae). Здесь же была обнаружена личинка клопа *Prostemma aenecoillie* Stein (Hemiptera, Nabidae), который ранее на территории республики не регистрировался.

В изученной ценопопуляции *Q. robur* описано 13 эколого-трофических групп насекомых. Среди фитофагов чаще встречались листогрызы, сосущие листву насекомые и карпофаги. Среди фитофагов доминируют полифаги – 47%, доля олигофагов – 35%, монофагов – 18%. Доминируют открытоживущие насекомые – 63,9%. Однако, в городской среде фитофаги, ведущие скрытый или полускрытый образ жизни и формирующие защитные приспособления к загрязнению листьев, представлены шире.

Среди изученных насекомых-дендробионтов в равной степени встречались второстепенные и факультативные вредители. Были обнаружены первостепенные вредители: дубовый слизистый пилильщик (*Caliroa cothurnata* Serv.) и зеленая дубовая листовертка (*Tortrix viridana* L.).

Разнообразие Insecta ценопопуляций дуба черешчатого выше в относительно чистом местообитании лесного биотопа Сернурского района. С возрастанием степени антропогенной нагрузки разнообразие видов сокращается в 1,6–2,6 раза, но при этом у монофагов сохраняются высокие показатели относительного обилия по шкале Ю. А. Песенко (1982).

Видовое разнообразие Insecta разновозрастных особей *Q. robur* сходны в одном биотопе (индекс Чекановского-Сьеренсена: 0,75–0,79). Наблюдается отличие состава насекомых на деревьях одного онтогенетического состояния разных экотопов (0,35–0,4). Это связано с тем, что экологические условия данных местообитаний существенно отличаются.

Таким образом, наибольшее разнообразие Insecta характерно для насаждений *Quercus robur* в условиях, приближенных к естественным, где минимальное воздействие антропогенной нагрузки. В городских насаждениях разнообразие энтомокомплексов сокращается.

ПОЛУЧЕНИЕ КОРМОВОГО БЕЛКА ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ЗЕРНА

Д. Р. Гильмутдинова, Н. А. Кириллов

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
kna27zergut@mail.ru

Сегодня существует множество способов переработки отходов зерна в спирты, органические кислоты, кормовые дрожжи, биогумус и в другие органические вещества с помощью микроорганизмов и червей. Однако и они не способны переработать весь объем образующихся отходов перерабатывающей промышленности. Исходя из этого, нами проведены исследования, целью которых послужила разработка простейшего способа получения кормового белка из отходов переработки зерна с использованием личинок насекомых вида *Tenebrio molitor* для последующего снабжения животноводческих ферм и птицефабрик высокоэнергетической белковой кормовой добавкой.

Выбор большого мучного хрущака из семейства чернотелок был продиктован его неприхотливостью к кормовому субстрату и тем, что его личинки используются в качестве корма для огромного количества животных – рептилий, амфибий, млекопитающих, беспозвоночных, птиц.

Кроме этого, как показывают результаты проведенных исследований, личинки данного жука обладают высокой энергетической (6,49 ккал/г) и кормовой ценностью, показателем кормоотдачи (2,2) (содержание в них белков составляет около 53%, жиров – 33 %, углеводов – 6 %, кальция – 0,11 и фосфора – 0,77 %), высокими темпам репродукции (самка мучного жука откладывает до 160 яиц за 3 месяца) при коротком репродуктивном возрасте насекомых (10 недель и 3,5 месяца соответственно).

Практически неограниченный на сегодняшний день спрос на кормовые добавки в связи с существенным увеличением поголовья скота в крупных и мелких животноводческих хозяйствах, и птицефабриках повышает привлекательность предлагаемого способа получения кормового белка.

Для получения кормовой добавки белковый компонент готовили из массы живых насекомых путем их охлаждения до состояния глубокого анабиоза и последующего измельчения до получения однородной массы. В дальнейшем белковый компонент использовали для получения сбалансированных кормов путем простого смешивания приготовленного белкового компонента с зерновым сырьем (пшеничными отрубями) в соотношении 1:4.

На следующем этапе исследований на базе агрохимцентра «Чувашский» был проведен химический анализ кормовой добавки. Как показал анализ, в протеиновой добавке содержится полный набор витаминов и незаменимых аминокислот, которые переходят из состава насекомых, прошедших щадящий режим переработки в виде охлаждения и грубого измельчения.

Именно отсутствие высоких температур при переработке, вызывающих денатурацию белков и частичное разрушение аминокислот и витаминов способствует сохранению в конечном продукте витаминов, имитируя принцип использования естественных кормов. А выращивание насекомых на искусственной среде, на проверенных на токсичность кормах, гарантирует экологическую чистоту получаемого корма.

Таким образом, анализ полученных в результате исследований данных позволяет нам заключить, что жуки большого мучного хрущака из семейства чернотелок могут быть использованы для переработки отходов зерна в промышленных условиях. При этом насекомые могут производить намного больше ценного пищевого белка при существенно меньших экологических и экономических издержках, чем традиционные животноводческие хозяйства, что открывает перспективы их использования в будущем, для восполнения растущих потребностей человечества в натуральной белковой еде.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СОСТОЯНИЕ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНДЕРНОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

О. В. Глухова, К. Ю. Краюхина, В. В. Баркин, Е. П. Лобкаева

Российский федеральный ядерный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики, 607188, Нижегородская обл., Саров, просп. Мира, 37;
memf@bfrc.vniief.ru

В работе представлены результаты исследования воздействия низкочастотного импульсного магнитного поля (НЧ ИМП) на состояние вегетативной нервной системы крыс, самцов и самок, с различным вегетативным статусом.

Воздействие оказывали НЧ ИМП формой сигнала затухающая синусоида частотой 100 Гц, частотой следования импульсов 1 Гц с максимальным значением магнитной индукции 3,15 мТл, генерируемым установкой УМТИ-ЗФ. Оценку влияния НЧ ИМП на функциональное состояние вегетативной нервной системы осуществляли путём анализа variability сердечного ритма (ВСР). Исследование ВСР проводили методами вариационной пульсометрии Р.М. Баевского, временного анализа и спектрального анализа с применением быстрого преобразования Фурье.

Выявили, что как у самцов, так и у самок с нормотоническим типом вегетативной регуляции воздействие НЧ ИМП не вызывает изменения вагосимпатического баланса. У крыс обоих полов с симпатотоническим и гиперсимпатотоническим типом вегетативной регуляции воздействие НЧ ИМП оказывает нормализующее действие на вегетативную нервную систему, формируя состояние нормотонии. Однако, у самцов нормализующий эффект НЧ ИМП сохранялся в течение 3 суток после воздействия, а у самок лишь в течение 30 минут после воздействия. Показано, что самцы отличаются более устойчивой реакцией вегетативной нервной системы на воздействие НЧ ИМП в нормализующем режиме, чем самки.

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ДИМЕРНОГО РЕЦЕПТОРА К ЭРИТРОПОЭТИНУ В КЛЕТКАХ МОЗГА НА КОГНИТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

М. М. Глявина^{1,2}, Д. В. Дорогин¹, М. А. Жученко³, И. В. Мухина^{1,2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18/1; mariyannov@gmail.com

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³ООО «Фармапарк», 117246, Москва, Научный проезд, 8/1

Одним из новых направлений в разработке методов нейропротекции при инсульте является использование в качестве терапевтической мишени общей рецепторной субъединицы димерного рецептора (β -cR) к эритропоэтину (EPO). Проведенные ранее исследования выявили нейропротекторную роль активации данного рецептора после локальной ишемии. Целью данной работы было исследование влияния активации субъединицы эритропоэтинового рецептора β -cR на общую двигательную активность и когнитивные функции интактных мышей линии C57BL/6.

Интактных животных разделили на 2 экспериментальные группы: с однократным и трехкратным (интервал введения- 2 часа) внутривенным введением CdEPO. В контрольной группе животным вводили физиологический раствор. Для оценки общей двигательной активности и ориентировочно-исследовательской деятельности проводили тестирование животных в установке «открытое поле» (Open Field LE800S, PanLab/Harvard Apparatus, Испания). Для оценки влияния CdEPO на когнитивные способности животного проводили тест «распознавание нового объекта», тест «поиск входа в укрытие». Поведение животных оценивали на следующие сутки после введения агониста. Количество животных в группе- 10. Достоверность различий оценивалась по критерию Манна - Уитни.

Для анализа были выбраны: продолжительность реакции грумминга и реакции замирания, количество вертикальных стоек. Продолжительность реакции грумминга увеличивается независимо от схемы введения. Однократное введение CdEPO увеличивает продолжительность реакции замирания. Введение CdEPO не влияет на вертикальную двигательную активность животных.

Тест «распознавание нового объекта» направлен на ассоциативное обучение. Он основан на исследовательском поведении грызуна при отсутствии стрессовой ситуации. Суть теста заключается в том, что, когда животные имеют возможность изучать знакомый и новый объект, они исследуют новый объект дольше, чем знакомый. Выявлено, что независимо от схемы введения, CdEPO положительно влияет на обучение животных: время изучения нового объекта заметно увеличивается по сравнению с группой, без введения препарата.

Экспериментальная установка теста «поиск входа в укрытие» состоит из темного и светлого отсека, соединённых лазом. В первой серии теста лаз открыт. Далее задача усложняется: лаз присыпан опилками (вровень с полом и выше уровня лаза) или закрыт пробкой (которую мышь должна сдвинуть или вытащить зубами). Однократное введение CdEPO сокращает время решения задачи, где лаз закрыт пробкой. В случае трехкратного введения наблюдается, что животные тратят больше времени на решение задач, где лаз засыпан опилками выше уровня лаза, и где мышь должна сдвинуть пробку зубами.

Проводимые исследования позволяют рассматривать гетеродимерный эритропоэтиновый рецептор в мозге как перспективную терапевтическую мишень. Необходимо более подробное изучение механизма влияния стимуляции CD131 рецептора на уровень стресса у животных. Фармакологическая активация β -cR субъединицы эритропоэтинового рецептора в мозге улучшает когнитивные функции мозга мыши линии C57BL/6.

2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛ ИЗМЕНЯЕТ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПРОТЕОМНЫЙ ПРОФИЛЬ *BACILLUS PUMILUS*

А. С. Горбунова, И. В. Хиляс, Ю. Д. Романова, Г. Ю. Яковлева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
GorbunovaAnna94@gmail.com

2,4,6-тринитротолуол (ТНТ) – токсичное нитроароматическое соединение, загрязнение данным ксенобиотиком почвенных и водных экосистем широко распространено ввиду его массового применения в производстве боеприпасов, лакокрасочных изделий и пестицидов. Ремедиация почв и сточных вод, загрязненных ТНТ, является необходимым мероприятием, вследствие наличия у данного соединения мутагенных свойств и устойчивости к биодegradации. Наиболее действенным и ненаносящим вреда окружающей среде является биологический метод трансформации ТНТ с помощью микроорганизмов. Известно, что токсический эффект на бактерий проявляется в подавлении роста культуры, изменении морфологии клеток, снижении трансмембранного потенциала и т.д. Однако, до конца остается невыясненным вопрос действия ксенобиотика на протеомный профиль потенциального микроорганизма-деструктора.

В связи с этим, методами 2D-электрофореза и время-пролетной масс-спектрометрии нами было оценено изменение протеомного профиля *Bacillus subtilis* SK 1 под действием ТНТ (20, 200 мг/л) на 4 и 24 час культивирования. С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ионообменной хроматографии (ИОХ) были идентифицированы продукты трансформации данного нитроарола.

Сравнительный протеомный анализ продемонстрировал, что на 4 и 24 час культивирования в присутствии ТНТ у исследуемого микроорганизма активировались ферментные системы, ведущие трансформацию ТНТ по пути его нитровосстановления, а также белки, принимающие участие в ответе на окислительный стресс и репарацию нуклеиновых кислот. В обоих исследуемых точках роста визуально наблюдалось понижение уровня рибосомальных субъединиц.

В ходе протеомного анализа большинство белков *B. subtilis* было идентифицировано как белки *B. pumilus*. Поэтому для уточнения таксономического положения штамма *B. subtilis* был проведен генетический анализ с помощью сиквенса 16S рРНК. Согласно проведенному скринингу по базе данных GenBank, наиболее близкими к полученной последовательности гена 16S рРНК к штамму оказались штаммы *B. subtilis*.

ИЗУЧЕНИЕ РЕЗИСТОМА И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В СТАЦИОНАРАХ НИЖНЕГО НОВГОРОДА

Д. А. Горев¹, А. Г. Точилина², А. И. Речкин¹, И. В. Белова², И. В. Соловьева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
DMKJNGRBL07@mail.ru

²Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной
Роспотребнадзора, 603022, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Внутрибольничные инфекции ухудшают клиническое течение основного заболевания, вызывают осложнения пациентов, перенесших хирургические вмешательства, а также пациентов отделений ОРИТ, неонатальной реанимации и трансплантации. Наиболее часто причиной вспышек нозокомиальных инфекций является возбудитель *Klebsiella pneumoniae*. Ввиду сложившейся ситуации возникает необходимость выявления генетических детерминант резистентности к антибиотикам и последующего типирования условно-патогенных штаммов. Целью данной работы явилось исследование резистома и последующее RAPD-типирование внутрибольничных штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в стационарах Нижнего Новгорода.

Всего в анализ было включено 63 штамма *K. pneumoniae*. Экстракцию ДНК проводили из бактериального материала, хранившегося в замороженном состоянии, с использованием реагента ДНК-Экспресс. Постановку реакции амплификации проводили в объеме 40 мкл с использованием ПЦР-наборов «Литех» для обнаружения генетически обусловленной резистентности анализируемых штаммов к карбапенемам: генетические детерминанты OXA, KPC, VIM, NDM; цефалоспоринам: CTX-M. Генетический полиморфизм штаммов выявляли методом RAPD. Результаты реакций амплификации анализировали методом электрофореза в агарозном геле.

В ходе идентификации генетических детерминант резистентности у анализируемых штаммов было установлено, что исследуемые изоляты *K. pneumoniae* имеют гены-маркеры резистентности к карбапенемам, в частности OXA, а также к цефалоспоринам – CTX-M. Более половины анализируемых штаммов (52,8%) не имеют генетических маркеров устойчивости. 28,6 % изолятов несут оба типа детерминант. По 9,5 % изолятов обладают одной из идентифицированных детерминант. Стоит отметить, что штаммы, выделенные из стационара № 1, несут лишь один ген-маркер устойчивости к антибиотикам – OXA или CTX-M, либо не обладают таковыми маркерами. Штаммы из стационара № 2 могут обладать как одной/двумя детерминантами устойчивости, так и не нести маркеров резистентности.

RAPD-типирование изолятов *K. pneumoniae* с использованием протокола RAPD7 выявило четыре паттерна. Отмечается кластеризация анализируемых штаммов в соответствии с местом их выделения. В частности, изоляты из стационара № 2 формируют кластер 4, остальные три кластера представлены изолятами из стационара № 1.

Сопоставление резистома исследуемых штаммов с их кластеризацией, согласно электрофоретическим RAPD паттернам, выявило следующие особенности: первые два кластера формируют штаммы, не несущие детерминант устойчивости; третий и четвертый кластер представлены изолятами несущими одну/две детерминанты устойчивости, с преобладанием в четвертом кластере штаммов, обладающих устойчивостью к карбапенемам и цефалоспоринам. Степень филогенетического родства анализируемых штаммов оценивали на основании молекулярно-генетического типирования (RAPD-типирование) через построение дендрограмм с использованием интернет-ресурса Dice + UPGMA analysis. Результаты филогенетического анализа, представленные в виде дендрограммы, позволяют более детально проследить степень родства исследуемых изолятов.

Таким образом, исследуемая выборка включает штаммы, несущие детерминанты устойчивости типов OXA и CTX-M. Кластеризация методом RAPD выявила четыре паттерна штаммов, дифференцируемых по месту их выделения, а также особенностям резистома.

СРАВНЕНИЕ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ H_2O_2 В КЛЕТКАХ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ, ИНДУЦИРОВАННОМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ

А. А. Горохова, Н. Н. Пескова, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anastasiya-dosaeva@yandex.ru

К фотодинамическим реакциям относят окислительно-восстановительные процессы, протекающие при участии трех составляющих – фотосенсибилизатора (ФС), света и кислорода. До недавнего времени считалось, что основной образующейся в этом процессе активной формой кислорода (АФК) является синглетный кислород, однако все большее количество данных свидетельствует о значительном вкладе других АФК, в первую очередь пероксида водорода. Особый интерес к исследованию накопления H_2O_2 при фотодинамическом воздействии обусловлен его участием во внутриклеточных сигнальных каскадах. Одним из методов позволяющих изучать продукцию АФК в живых системах в режиме реального времени является использование генетически кодируемых сенсоров на основе флуоресцентных белков. НуPer – флуоресцентный белок-сенсор, характеризующийся изменением формы спектра возбуждения при окислении пероксидом водорода, что позволяет реализовать ратиометрический подход в условиях, когда концентрация сенсора неизвестна. Целью данной работы являлся анализ динамики содержания H_2O_2 в клетках при фотодинамическом воздействии, индуцированном фотосенсибилизаторами различной структуры.

Исследования проводили на культурах клеток эпидермоидной карциномы человека, трансфицированных генетически кодируемым сенсором НуPer с экспрессией белка в митохондриях и цитоплазме: А431-НуPer-Mito и А431-НуPer-Cyto. В качестве фотосенсибилизаторов в работе были использованы препарат Фотосенс® (ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Россия), действующим веществом которого является гидроксид алюминия трисульфопталоцианин, и синтезированное в ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН соединение из класса порфиразинов – тетра(4-бензилоксифенил)тетрацианопорфиразин (Pz).

Анализ внутриклеточного распределения исследуемых ФС показал, что для Фотосенса характерна локализация в лизосомах и, предположительно, эндосомах. Основными местами внутриклеточной локализации Pz в опухолевых клетках являются внутриклеточные мембраны, ядерная оболочка или прилегающие к ней структуры.

В митохондриях зарегистрировано исходно более высокое содержание H_2O_2 по сравнению с цитоплазмой клеток. Увеличение содержания H_2O_2 в течение сравнительно длительного времени после облучения позволяет говорить о его продукции в ходе вторичных процессов, развивающихся как следствие фотодинамического воздействия. Исследование динамики содержания H_2O_2 в клетках с помощью мониторинга в режиме реального времени показало, что после фотодинамического воздействия вторичная продукция H_2O_2 наблюдается в клетках в случае всех протестированных ФС, однако соотношение скорости продукции в разных компартментах существенно отличается. В случае с Pz1 продукция H_2O_2 в митохондриях значительно опережает накопление в цитоплазме, тогда как в случае фотосенса, наоборот, увеличение содержания H_2O_2 наблюдалось сначала в цитоплазме и лишь позднее в митохондриях.

Таким образом, механизмы развития ответа на фотодинамическое воздействие с разными ФС могут качественно отличаться. Описанные различия в динамике продукции пероксида водорода могут быть связаны с отличиями физико-химических свойств (степени гидрофильности) исследованных ФС, а также их различной внутриклеточной локализацией.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (Задание № 6.3099.2017/ПЧ) и РФФИ (проект 16-04-01676).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПИРАБАКТИНА НА УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК ПШЕНИЦЫ

А. Д. Горшкова¹, Ю. В. Сеницына¹, Е. К. Крутова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alena.brandis@mail.ru

²Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107,
Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Фитогормоны – регуляторы роста и развития растений – это перспективная группа соединений для сельского хозяйства, поскольку они повышают устойчивость, а, следовательно, и урожайность растений. Для одних фитогормонов имеется опыт применения в сельском хозяйстве, другие – напротив, практически не используются. Так, например, абсцизовая кислота (АБК) и ее аналоги пока в промышленном масштабе не применяются, хотя теоретически имеют большие перспективы. Цель работы – исследование влияние аналога абсцизовой кислоты – пирабактина – на характеристики устойчивости растений пшеницы в условиях засухи.

Объектами исследования служили растения пшеницы яровой, сорт «Злата». Для закладки опыта использовали сосуды Вагнера на 6 кг почвы. В сосуды высаживали семена пшеницы (30 шт./сосуд). Почву увлажняли до 60% общей влагоемкости. Через 2 недели их выравнивали по плотности всходов, оставляя по 20 растений пшеницы в каждом. Через 2, 4 и 6 дней после прекращения полива в варианте засуха растения обрабатывали пирабактином (ПБ) в концентрации 10^{-6} М, контроль – опрыскивание водой в эквивалентном количестве. Засуха длилась 12 дней, после чего возобновляли полив на неделю, затем опыт ликвидировали. В ходе засухи в листьях растений определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК), оснований Шиффа (ОШ) и выход электролитов. При ликвидации опыта были определены морфометрические характеристики: длина побега, количество стеблей, в том числе продуктивных, длина флагового листа и сухой вес одного растения.

Показано, что в условиях полива обработка пирабактином мало влияла на исследуемые параметры, но выявлено небольшое увеличение содержания оснований Шиффа (на 18%). Засуха оказывала сильное влияние на биохимические и морфологические характеристики растений: уменьшалась длина побега (на 42%), длина флагового листа (на 36%), сухой вес одного растения (на 44%) и стабильность мембран (на 23%), но увеличивалось количество стеблей (на 31%) и оснований Шиффа (на 37%). На фоне засухи обработка ПБ показала уменьшение содержания диеновых конъюгатов (по сравнению с необработанными растениями в условиях засухи) на 53%. Также становилась больше длина побега (на 15%), количество стеблей (на 34%), длина флагового листа (на 22%) и стабильность мембран (на 19%). Наиболее эффективный срок обработки наблюдалось у растений на 4 день засухи. Показатели растений при обработке ПБ в условиях засухи ближе к показателям растений в условиях полива.

Таким образом, пирабактин влиял на липидный состав и стабильность мембран: уменьшал содержание диеновых конъюгатов, но увеличивал – оснований Шиффа. Также пирабактин повышал стабильность мембран растений. На основании полученных результатов можно рекомендовать использование пирабактина в практике сельского хозяйства для повышения устойчивости пшеницы в условиях засухи.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТАКТИЛЬНОЙ И ВИЗУАЛЬНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ НА НАВЫК ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ДВИЖЕНИЙ ОПЕРАТОРА В КОНТУРЕ ИНТЕРФЕЙСА МОЗГ-КОМПЬЮТЕР МОТОРНО-ВООБРАЖАЕМОГО ТИПА

Н. А. Григорьев¹, М. В. Лукоянов^{1,3}, С. Ю. Гордлеева¹, А. В. Савосенков¹, А. С. Пимашкин¹, В. Б. Казанцев¹, А. Я. Каплан^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
na0grigorev@gmail.com

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ГСП-1,
Ленинские горы, 1

³Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Интерфейс мозг-компьютер (ИМК) – это программно-аппаратная система, которая позволяет оператору управлять внешними устройствами без использования мышц, напрямую от мозга. В данном исследовании использовался ИМК моторно-воображаемого типа, в основе работы которого лежит классификация паттернов ЭЭГ, вызываемых воображением движений конечностями. Важной особенностью ИМК выступает наличие обратной связи (ОС) для обеспечения высокого уровня вовлеченности оператора в процесс и формирования устойчивого навыка представления движения. Разработанный нейроинтерфейс может применяться для восстановления двигательной активности парализованных конечностей у пациентов, переживших инсульт. Цель исследования – сравнение степени десинхронизации мю-ритма при воображении движений и точности классификации контура ИМК моторно-воображаемого типа с тремя командами (воображаемое движение правой/левой рукой и состояние «покой») при использовании вибротактильной, визуальной обратных связей и без них.

Регистрация ЭЭГ производилась при помощи электроэнцефалографа NVX-52, сигнал записывался с 30 электродов. Электроды устанавливались по системе 10-10. Исследование состояло из трех экспериментальных сессий. Обучение испытуемого методике воображаемых движений проводилось в первую сессию. Во время второй и третьей сессий производилось тестирование испытуемого с использованием различных видов ОС, при этом за одну сессию испытуемому предоставлялся только один вариант ОС и в качестве контроля проводились тесты без обратной связи. Визуальная ОС представляла собой заполняющуюся цветом полосу на мониторе при верном распознавании команды. Тактильная ОС осуществлялась с помощью вибромоторов, установленных на предплечья и тыльную сторону шеи для сигнализации об успешном распознавании паттернов ЭЭГ представления движений.

В исследовании участвовали 6 здоровых испытуемых в возрасте 18-24 лет с ведущей правой рукой. Каждый испытуемый принял участие в трех экспериментальных сессиях с шестью записями по 10 предъявлений каждой из команд.

В среднем у всех испытуемых десинхронизация была статистически достоверно больше при использовании вибротактильной ОС по сравнению с контролем (отсутствие ОС) для электрода С3 при воображаемых движениях обеих рук. При сравнении степени десинхронизации с использованием визуальной ОС относительно контроля статистически достоверные различия были выявлены только при представлении движений правой рукой в контралатеральном полушарии (электрод С3). Результаты анализа точности классификации проведенных экспериментов говорят о том, что введение тактильной ОС в контур ИМК не приводит к уменьшению эффективности работы оператора. Результаты анализа десинхронизации показывают, что при определенных режимах подачи, тактильная ОС может приводить к возникновению более выраженной десинхронизации, по сравнению с визуальной ОС, у испытуемых.

Работа поддержана Российским научным фондом проект № 15-19-20053.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА РЕГУЛЯЦИЮ ФОТОСИНТЕЗА ЭЛЕКТРИЧЕСКИМИ СИГНАЛАМИ

М. А. Гринберг, Е. Н. Громова, С. В. Гудков, В. А. Воденев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mag1355@yandex.ru

Растения не способны активно избегать действия неблагоприятных факторов окружающей среды, однако в процессе эволюции у них выработались крайне эффективные механизмы, позволяющие им приспосабливаться к различным окружающим условиям, в том числе к повышенному радиационному фону. Важнейшим физиологическим процессом растений является фотосинтез, изменение активности которого служит ключевым элементом адаптации к действию разнообразных факторов. В настоящее время в мировой литературе имеются противоречивые данные о влиянии малых доз ионизирующего излучения (ИИ) на фотосинтез высших растений. Информация о регуляции фотосинтетических процессов при воздействии кратковременных стресс-факторов на фоне хронического облучения отсутствует полностью. Данная проблема представляет особый интерес, поскольку один из типов быстрых стрессовых сигналов – распространяющаяся волна изменения электрического потенциала на мембранах клеток (электрический сигнал) – напрямую связан с состоянием липидного бислоя, являющегося одной из основных мишеней ИИ низкой мощности.

Исследования проводились на проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.). В качестве источника ИИ использовался β -излучатель ^{90}Sr - ^{90}Y с активностями 0,1 и 1 МБк, мощность дозы 31,3 и 313 мкГр/час. Общее время облучения растений 15 дней. Максимальная накопленная доза около 11,3 и 113 мГр. Активность фотосинтеза измерялась при помощи инфракрасного газоанализатора и РАМ-флуориметра. Измерение величины мембранного потенциала в листьях и в корнях проростков производилось при помощи микроэлектродной техники. Для определения метаболической компоненты мембранного потенциала применялся специфический ингибитор АТФаз Р-типа ортованадат натрия (Na_3VO_4). Параметры индуцированного нагревом электрического сигнала регистрировались внеклеточно с использованием многоканальной макроэлектродной установки.

Не было выявлено значимых различий в морфометрических показателях у облученных и контрольных растений. Основные параметры световой и темновой стадий фотосинтеза ($Y(I)$, $Y(II)$, NPQ , амплитуда возрастания ассимиляции на включение света) и уровень транспирации также практически не изменились. Показано, однако, что хроническое действие малых доз ИИ приводит к увеличению электрического мембранного потенциала клеток как побега, так и корня. Ингибиторный анализ не выявил изменения величины метаболической компоненты мембранного потенциала, что указывает на связь выявленных изменений с величиной диффузионной компоненты. Обнаруженные различия могут лежать в основе зарегистрированных изменений в параметрах вызванного действием такого стресс-фактора как нагрев переменного потенциала (ВП). Облучение в указанных дозах приводит к увеличению скорости распространения ВП, снижению его амплитуды и длительности. Также имеют место различия в индуцированных ВП изменениях параметров активности фотосинтеза, возрастает амплитуда изменений $Y(I)$, $Y(II)$ и ассимиляции, а также NPQ . Характер изменений от дозы зависит не линейно: растения, выращенные на источнике 0,1 МБк показывают большие различия с контролем, чем растения с источника 1 МБк.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-34-00637 мол_а).

ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ И ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ НА НЕФОТОХИМИЧЕСКОЕ ТУШЕНИЕ И ФОТОХИМИЧЕСКИЙ ИНДЕКС ОТРАЖЕНИЯ (PRI) У ГОРОХА

Е. Н. Громова, Е. М. Сурова, В. Н. Неруш, Е. М. Сухова, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kater333@inbox.ru

Фотохимический индекс отражения (photochemical reflectance index, PRI) основан на регистрации отраженного света на длинах волн 531 и 570 нм и связан с переходами в ксантофилловом цикле, которые являются одним из механизмов нефотохимического тушения (NPQ). Благодаря относительной простоте регистрации, PRI является потенциально перспективным показателем для дистанционной диагностики состояния растений; однако, его связь с фотосинтетическими показателями при действии различных стрессоров и при распространении стрессовых сигналов требует дальнейших исследований.

Целью настоящей работы стал анализ влияния на PRI двух факторов: длительного стресса на примере почвенной засухи и быстрых стрессовых сигналов электрической природы. Объектом исследования служили проростки гороха. Для анализа фотосинтетических показателей использовали Dual-PAM-100 и Imaging-PAM, для регистрации PRI – спектрометр S-100. Электрические сигналы регистрировали макроэлектродным методом.

Было показано, что через 6 и 10 дней после прекращения полива достоверные различия PRI и энергозависимой компоненты NPQ между опытом (засуха) и контролем (нормальный полив) отсутствовали. По-видимому, одной из причин этого являлся значительный сдвиг обоих показателей с увеличением возраста растений. Другая причина была выявлена при анализе распределения NPQ по поверхности листа в опыте и контроле: такое распределение достоверно отличалось у контрольных и стрессированных листьев, в то время как средние различия были относительно малы. На основании этого было предложено два потенциальных пути использования PRI для диагностики засухи, первый из которых может опираться на анализ пространственного распределения PRI по листу, а второй на выявление раннего действия засухи на растения. Для анализа второй возможности была проведена дополнительная серия экспериментов, в ходе которой показано, что абсолютная величина PRI достоверно снижалась по сравнению с контролем в первый день засухи; однако в последующие дни различия становились недостоверными. Исследование величины изменения PRI на включение света показало, что достоверные различия этого показателя в опыте и контроле сохранялись при более длительном действии засухи.

Учитывая сложный характер изменения PRI в длительном временном диапазоне, далее мы исследовали возможность развития изменения PRI в ходе развития кратковременных стрессовых ответов фотосинтеза, вызванных распространением электрических сигналов. Прежде всего, было показано, что электрические сигналы вызвали обратимую инактивацию фотосинтеза (снижение ассимиляции CO₂). Далее выявлено, что такие сигналы вызывали увеличение энергозависимой компоненты NPQ и снижение PRI; оба процесса имели сходную динамику, между их величинами наблюдалась высокая отрицательная корреляция.

Полученные результаты показывают, что регистрация абсолютной величины PRI является эффективным показателем состояния растения при мониторинге его быстрых стрессовых ответов (распространение стрессовых сигналов, начальный этап засухи). В случае длительного действия стрессовых факторов, требуется использование дополнительных подходов (возможно, регистрации распределения PRI по листу и/или растению, анализ изменения PRI при действии дополнительного света и т.д.).

Все экспериментальные исследования PRI и NPQ были выполнены при поддержке Российского научного фонда (Проект № 17-76-20032); влияние электрических сигналов на ассимиляцию CO₂ выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Проект № 18-34-00637 мол_а).

ТОКСИЧЕСКИЕ И ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИЛЛАР[5]АРЕНОВ

Е. В. Груздева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
gruzdazda@yandex.ru

Пиллар[n]арены являются перспективной основой создания молекулярных и супрамолекулярных систем, которые могут найти применение в биологии и медицине в качестве наноконтейнеров для биологически-активных агентов. Любые соединения, планируемые к применению в области медицины и биологии, должны соответствовать требованиям биосовместимости, поэтому, в связи с вышесказанным, целью настоящей работы являлась оценка токсических и генотоксических свойств новых пиллар[5]аренов по отношению к клеткам прокариот (*Salmonella typhimurium* TA 100) и эукариот (клетки карциномы легкого человека A549).

Объектом исследования в данной работе выступали пиллар[5]арены DNS-165, DNS-158, DNS-113, с различными заместителями на кольце, любезно предоставленные каф. органической химии Химического института имени А.М. Бутлерова Казанского федерального университета.

Токсические и генотоксические свойства пиллар[5]аренов оценивали с помощью теста на токсичность по отношению к микроорганизмам, при оценке генотоксичности был использован тест Эймса. В качестве тестерного штамма использовали *Salmonella typhimurium* TA 100 позволяет регистрировать мутации типа замены пар оснований, приводящие к реверсии от ауксотрофности по гистидину к прототрофности в тесте Эймса. Также осуществляли характеристику изменений жизнеспособности клеток аденокарциномы легкого человека A549 под действием пиллар[5]аренов в МТТ-тесте.

Нами было установлено, что исследуемые пиллар[5]арены не обладали токсическим действием во всем диапазоне исследованных концентраций (100–500 мкг/чашку) по отношению к тестерному штамму *S. typhimurium* TA100. При характеристике генотоксической активности исследуемых пиллар[5]аренов в тесте Эймса показано, что во всем диапазоне исследованных концентраций (200-1000 мкг/чашку) эти соединения не были способны индуцировать мутации по типу замены пар оснований в клетках тестерного штамма *S. typhimurium* TA100. Число колоний ревертантов, выросших в присутствии пиллар[5]аренов не превышало такового в вариантах без обработки.

Для обоснования возможности применения исследованных пиллар[5]аренов в качестве основы для создания систем доставки лекарственных агентов в организм животных и человека было необходимо охарактеризовать их способность изменять выживаемость клеток млекопитающих. Установлено, что пиллар[5]арен DNS-113, модифицированный положительно заряженными лигандами с четвертичным аммонием, не проявил статистически достоверной цитотоксической активности по отношению к клеткам A549 во всем диапазоне исследованных концентраций (10-500 мкг/мл). Соединения DNS-165 и DNS-158 обладали незначительной цитотоксичностью лишь в наивысшей из исследованных концентраций (500 мкг/мл), снижая жизнеспособность клеток A549 до 70% и 73%, соответственно.

Таким образом, проведенное нами исследование подтвердило биосовместимость и биобезопасность пиллар[5]аренов DNS-165, DNS-158 и DNS-113, что дает основания к их дальнейшему тестированию в качестве перспективной основы для создания средств целенаправленной доставки лекарственных препаратов, в том числе и противоопухолевых.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-03-00858.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТСТАБИЛИЗИРОВАННЫХ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ИЗМЕНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* И БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*

А. А. Данилушкина, С. А. Коннова, Р. Ф. Фахруллин

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
anchutka124@gmail.com

Инженерия клеточной поверхности является быстро развивающейся междисциплинарной областью исследований, направленной на изготовление искусственных функциональных оболочек на поверхности клеток. Взаимодействие клеток с многослойными полимерами рассматривается как действенный способ ослабления или усиления внутренних свойств клеток для контроля их деления или сборки клеток в искусственные многоклеточные кластеры. В настоящее время в большинстве случаев для покрытия живых клеток используют биосовместимый метод послойного нанесения полиэлектролитов. Но у этого метода есть недостатки: длительность процесса нанесения полиэлектролитов, существенное подавление жизнеспособности покрываемых объектов. Для того, чтобы сократить время покрытия дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и бактерий *Escherichia coli* полиэлектролитами мы предлагаем заблаговременную подготовку (стабилизацию различными полиэлектролитами) частиц и дальнейшее одноэтапное покрытие клеток стабилизированными наночастицами. Также мы решили определить, как полиэлектролиты и стабилизированные серебряные наночастицы влияют на жизнеспособность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерии *E. coli*.

Для стабилизации серебряных наночастиц мы использовали следующие полиэлектролиты: РАН (polyallylamine hydrochloride), PDADMAC (poly(diallyldimethylammonium chloride)), PEI (polyethyleneimine). Растворы данных полиэлектролитов добавляли к наночастицам серебра, обрабатывали на ультразвуковом гомогенизаторе и перемешивали на ротаторе. Далее проводили отмывку полученных частиц от избытка полиэлектролита. Затем покрывали клетки дрожжей и бактерий полученными полимер-стабилизированными серебряными наночастицами. Для этого встряхивали клетки с наночастицами на шейкере и промывали несколько раз дистиллированной водой. Для определения влияния полиэлектролитов и серебряных наночастиц на жизнеспособность дрожжей и бактерий использовали окрашивание витальными красителями (Fluorescein diacetate и Propidium iodide) и построение кривых роста.

Серебряные наночастицы были стабилизированы полиэлектролитами: РАН, PDADMAC, PEI. Полученные полимер-стабилизированные серебряные наночастицы были охарактеризованы различными видами микроскопии: атомно-силовая, просвечивающая электронная, усиленная темнопольная. Клетки дрожжей и бактерий были покрыты полимер-стабилизированными серебряными наночастицами. Также были проведены тесты на жизнеспособность дрожжей и бактерий. По полученным нами данным кривых роста дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* следует, что полиэлектролит РАН слабо влияет на их жизнеспособность ($95,9\% \pm 7,8$ живых клеток относительно контроля), полиэлектролит PDADMAC влияет немного сильнее ($93,6\% \pm 5,2$ живых клеток относительно контроля), а PEI – еще сильнее ($63,3\% \pm 6,1$ живых клеток относительно контроля). Сами серебряные наночастицы слабо влияют на жизнеспособность дрожжей и бактерий ($97,9\% \pm 2,1$ живых клеток относительно контроля).

Мы описали быстрый метод нанесения серебряных наночастиц, стабилизированных различными полиэлектролитами, на поверхность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli*. Также мы выяснили, что наибольшей цитотоксичностью обладают серебряные наночастицы, стабилизированные полиэлектролитами PEI и PDADMAC.

Эта работа финансировалась за счет субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект 16.2822.2017 / 4.6).

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АДЕНОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА 5-ГО СЕРОТИПА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО СЕКРЕТОРНЫЙ ГЕН ϵ -ТОКСИНА *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

***А. В. Данилюк*^{1,2}, *П. Д. Осипова*^{1,2}, *А. Г. Картуесов*^{1,2}, *Т. А. Ожаровская*², *О. В. Зубкова*²**

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

²Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава России – Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18; 5170952@mail.ru

Большой ущерб сельскому хозяйству наносят некротический энтероколит, анаэробная энтеротоксемия, эдема и дизентерия у КРС, лошадей, свиней, кур и собак, вызванные ϵ -токсином *Clostridium perfringens*. Энтеротоксемия вызывает острое заболевание, приводящее к быстрой смерти инфицированного животного. Это приводит к большим экономическим потерям при массовой гибели животных. Поскольку болезнь быстро прогрессирует, лечение затруднено и нецелесообразно. Единственный способ защитить стадо крупного и малого рогатого скота от падежа – вакцинация. Существуют две вакцины для защиты от ϵ -токсина: инактивированная и вакцина на основе инактивированного формалином токсина. Они обладают рядом недостатков: невысокая иммуногенность, поэтому требует наличия адъювантов, повышенный уровень аллергических реакций, вероятность неполной инактивации патогена, непродолжительный иммунитет. Поэтому необходимо создание более эффективного вакцинного препарата. Универсальной базой для создания рекомбинантных вакцин является векторная система на основе рекомбинантного аденовируса (Ad).

Для проверки возможности использования аденовирусных векторов в качестве носителя гена ϵ -токсина (Etox), было решено сконструировать аденовирус человека 5-го серотипа, экспрессирующий ген Etox. После проведенного биоинформационного анализа была проведена модификация гена, которая заключалась в добавлении последовательности лидерного пептида гена секретируемой щелочной фосфатазы, который ответственен за секрецию токсина, и делецию С-концевого домена гена Etox для выхода токсина из клеток с целью обнаружения его клетками иммунной системы организма. Модифицированный ген LP-EtoxdlC был синтезирован в ЗАО «Евроген».

Для конструирования рекомбинантной аденовирусной плазмиды с геном LP-EtoxdlC использовали технологию, основанную на гомологичной рекомбинации в *Escherichia coli*. На первом этапе был сконструирован челочно-плазмидный вектор pSh-LP-EtoxdlC, несущий правый и левый концы генома Ad5 и экспрессирующей кассету с геном LP-EtoxdlC под контролем CMV-промотора. Для создания полногеномной аденовирусной плазмиды вектор pSh-LP-EtoxdlC рекомбинировали с плазмидой, несущей полный геном Ad5. В результате гомологичной рекомбинации в клетках *E. coli* была получена плазида pAd5-LP-EtoxdlC. Полученную плазмидную конструкцию охарактеризовали методом рестрикционного анализа и ПЦР. Для получения рекомбинантного вируса клеточную линию НЕК293 (клетки эмбриональной почки человека) трансфицировали плазмидой pAd5-LP-EtoxdlC. Для быстрого оживления вируса на пятый день после трансфекции проводили первый слепой пассаж. Через 3 дня после слепого пассажа наблюдали развитие цитопатического действия. Получение рекомбинантного вируса подтверждали ПЦР анализом. Детекцию экспрессии гена LP-EtoxdlC, а также его секрецию подтверждали методом вестерн-блота. Для этого линию клеток эпителия легкого человека A549 заражали полученным вирусом Ad5-LP-EtoxdlC, через 48 часов после трансдукции отбирали среду и клетками и анализировали их на наличие токсина. В результате ϵ -токсин был обнаружен в среде и не обнаружен в клетках.

Таким образом, нами был получен аденовирус, экспрессирующий ген ϵ -токсина *C. perfringens* в секреторной форме. В дальнейшем планируется исследование данного аденовирусного препарата на животных и рассматривается возможность его использования в качестве кандидатной вакцины против болезней, вызываемых *C. perfringens*.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ В ОПУХОЛИ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ИЗ КЛАССА ПОРФИРАЗИНОВ В СОСТАВЕ ЧАСТИЦ
ВАТЕРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

***К. Р. Джаруллаева¹, Б. В. Парахонский², А. Б. Воловецкий¹, С. А. Лермонтова^{1, 3},
Л. Г. Клапшина^{1, 3}, И. В. Балалаева¹, В. А. Воденев¹, Н. Ю. Шильгина¹***

¹Университет Лобачевского, 603005, Нижний Новгород, просп. Гагарина 23;

9kar.ru.9@mail.ru

²Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 410012, Саратов,
ул. Астраханская, 83

³Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород,
Россия, ул. Тропинина, 49

В настоящее время онкологические заболевания являются глобальной проблемой во всем мире. В связи с этим актуальной научной задачей является разработка эффективных методов и подходов для диагностики и лечения данных заболеваний. Одним из таких подходов является использование метода фотодинамической терапии (ФДТ). Однако для большинства применяемых на данный момент препаратов для ФДТ существует проблема фотосенсибилизации здоровых тканей организма в связи с низкой селективностью их накопления в опухолевом очаге. Кроме того, для достижения эффективных концентраций в опухолевых клетках требуется введение больших доз фотосенсибилизатора (ФС), являющихся токсичными для организма. Большой интерес для иммобилизации ФС представляют субмикронные частицы карбоната кальция (ватерит), поскольку они обладают пористой структурой, хорошей биосовместимостью и мягкими условиями разрушения. Целью данной работы являлось исследование эффективности доставки фотосенсибилизатора тетра(4-фторфенил)тетрацианопорфиразина в опухоль с помощью субмикронных частиц карбоната кальция.

Эксперимент проводился в отношении фотосенсибилизатора тетра(4-фторфенил)тетрацианопорфиразина (порфиразин, Pz) в составе субмикронных частиц карбоната кальция. Исследования осуществлялись на мышах линии Balb/c с подкожно привитой опухолью СТ26 (карцинома толстой кишки мыши). Для оценки накопления порфиразина в опухоли в составе ватерита проводился поверхностный флуоресцентный имиджинг животных на установке для флуоресцентного имиджинга (УФИ, ИПФ РАН, г. Нижний Новгород). Анализ полученных флуоресцентных изображений животных-опухоленосителей, осуществлялся с помощью программы ImageJ (Version 1.24o, National Institutes of Health, США). По изображениям оценивалась интенсивность флуоресценции в опухолевой и здоровой ткани. На основе этих данных рассчитывался контраст флуоресцентного сигнала между опухолевой и нормальной тканью.

Полученные результаты показали, что использование частиц ватерита в качестве контейнеров для доставки порфиразина обеспечивает его повышенное накопление в опухоли. При этом нами было показано, что при использовании частиц ватерита увеличивается время циркуляции порфиразина в крови экспериментальных животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ проект № 14.Z50.31.0022.

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОВОДИМОСТИ h-КАНАЛОВ В CA1 ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА

М. С. Доронин¹, Ю. В. Дембицкая¹, А. В. Семьянов^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
doronin@neuro.nnov.ru

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

NMDA-рецепторы играют важную роль в возникновении синаптической пластичности как механизма памяти и обучения. Эта роль обусловлена высокой кальциевой проводимости, который выполняет роль внутриклеточного мессенджера и запускает механизмы пластичности. По своей локализации NMDA-рецепторы разделяются на синаптические и внесинаптические, что обуславливает их различную роль и механизмы воздействия на нейрональную активность. В частности, их активация по-разному влияет на проводимость h-каналов (катионных каналов, активируемых гиперполяризацией мембраны) (Fan et al., 2005). Это влияет на величину возникающих возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП), и, следовательно, на синаптическую пластичность. Показано, что при активации синаптических NMDA-рецепторов проводимость h-каналов увеличивается (Wu et al., 2012). Активация же внесинаптических NMDA-рецепторов, наоборот, понижает проводимость h-каналов. Последнее наиболее интересно, поскольку может приводить к возникновению новой формы ранее неизученной синаптической потенциации за счет снижения проводимости h-каналов, приводящей к увеличению величины ВПСП и локальному усилению эффективности синаптической передачи. Поэтому предметом данного исследования является изучение возможности возникновения и механизмы субклеточной потенциации в определенных участках дендритов, обусловленной различной локальной активацией синаптических и внесинаптических NMDA-рецепторов.

Для того, чтобы изучить данный вопрос, мы применили методику совмещенной электрофизиологической регистрации патч-кламп, двухфотонного имиджинга (для локализации дендритов) и фотоактивацию. Кроме того, в работе изучается зависимость субклеточной потенциации в зависимости от активности синаптических и внесинаптических NMDA-рецепторов как на уровне различных дендритных отростков нейрональной клетки, так и на уровне одного дендритного отростка. Нами было показано, что входное сопротивление нейронов изменяется при возникновении пластичности, свидетельствуя о возможности изменения локальной проводимости за счет активации h-каналов. Также нами были исследованы изменения амплитуды ВПСП в зависимости от активности синаптических рецепторов.

Результаты проведенных исследований отражают важные механизмы гомеостаза, которые контролируют силу синапса и клеточную возбудимость, действуя посредством h-каналов, и уравновешивают суммарное сопротивление клетки.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00961 мол_а.

БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕФРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ОНКОЗАБОЛЕВАНИЯХ

Н. В. Дробот¹, Г. П. Дробот¹, Д. В. Пасынков²

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина 1;
Naika-Elle@yandex.ru

²Республиканский онкологический диспансер Республики Марий Эл, 424037, Йошкар-Ола,
ул. Осипенко, 22

На сегодняшний день, несмотря на улучшение выживаемости пациентов со злокачественными новообразованиями и переносимости препаратов, снижение функции почек остается важным осложнением химиотерапии. Применение препаратов противоопухолевой терапии может приводить к различным повреждениям почек, таким как внутривисцеральная вазоконстрикция, прямая тубулярная токсичность и внутриканальцевая обструкция. Развившаяся почечная недостаточность приводит к задержке экскреции препарата и его метаболитов, в результате чего системная токсичность увеличивается. Таким образом, при развитии у пациента почечной недостаточности требуется обязательная коррекция дозы нефротоксического препарата. Цель работы – исследовать влияние некоторых химиотерапевтических препаратов на показатели функциональной активности почек.

Исследование проводилось с июня 2016 г. по май 2017 г. на базе ГБУ «Республиканский онкологический диспансер Республики Марий Эл» (РОД РМЭ) и на кафедре биохимии, клеточной биологии и микробиологии. Объектом исследования служила сыворотка крови больных онкологическими заболеваниями. Оценивались следующие показатели азотистого обмена: концентрация креатинина [мкмоль/л] и концентрация мочевины [ммоль/л] в сыворотке крови, а также клиренс креатинина [мл/мин], рассчитанный по формуле Кокрофта-Голта. В конечную выборку для проведения статистической обработки данных вошли 31 пациент обоего пола в возрасте от 38 лет до 71 года, страдавшие различными злокачественными новообразованиями I–IV стадии. Оценивалось влияние на функцию почек следующих химиотерапевтических агентов: лейковорин, карбоплатин, оксалиплатин, фторурацил и цисплатин.

В результате проделанной работы можно отметить, что исследованные биохимические показатели азотистого обмена с разной степенью чувствительности оценивают функциональную активность почек. При этом наиболее информативным из них является, по-видимому, клиренс креатинина. С использованием данного параметра в качестве оценки почечной функции проводились дальнейшие статистические анализы, показавшие его связь с препаратами платины, нефротоксический эффект которых обусловлен повреждением почечных канальцев и гибелью их, а также лейковорином и фторурацилом, часто используемыми в комбинации.

Биомаркеры функциональной активности почек, такие как концентрация мочевины и креатинина в сыворотке крови, не являются достаточно точными, поскольку не учитывают демографические характеристики пациента (пол, возраст), а также массу тела. Расчет клиренса креатинина – более надежный способ оценки почечной функции.

Обнаружена корреляционная связь изменения исходного и текущих значений клиренса креатинина со следующими химиотерапевтическими препаратами: карбоплатин ($r_p=0,64$), лейковорин ($r_p=0,68$), оксалиплатин ($r_s=0,52$), фторурацил ($r_p=0,72$) и цисплатин ($r_s=0,66$).

В результате проведенного статистического анализа получена бинарная логистическая регрессионная модель, которая на данной выборке пациентов прогнозирует ухудшение почечной функции с точностью 73,9 %.

АГРЕГАЦИЯ МИТОХОНДРИЙ, ИНДУЦИРОВАННАЯ ПРОДУКТАМИ ОМЕГА-ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

М. В. Дубинин, В. С. Старинец, К. С. Теньков, У. А. Суринова, А. С. Косолапова, К. Н. Белослудцев, В. Н. Самарцев

Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
dubinin1989@gmail.com

Ранее нами было показано, что продукты ω -окисления свободных жирных кислот способны индуцировать кальций-зависимую неспецифическую проницаемость биологических и искусственных мембран. Предполагается, что формирование такой проницаемости обусловлено полиморфными фазовыми переходами, приводящими к перестройке мембран и формированию небислоиных структур.

В настоящей работе мы оценивали способность одного из продуктов ω -окисления пальмитиновой кислоты, а именно, ω -гидроксипальмитиновой кислоты (ГПК), вызывать Ca^{2+} -зависимую проницаемость митохондрий печени крыс. Показано, что добавление ГПК к митохондриям печени, нагруженным Ca^{2+} , индуцирует снижение оптической плотности суспензии органелл, падение мембранного потенциала, выход Ca^{2+} из матрикса и окисление пула NAD(P)H. Наблюдаемые эффекты не подавлялись ингибитором МРТ поры ЦсА. Эффекты этой кислоты наблюдаются только при наличии Ca^{2+} в матриксе органелл – в отсутствие субстрата окисления и при наличии ингибитора кальциевого унипортера рутениевого красного в среде инкубации ГПК была неэффективна. Описанные явления наблюдались при замене Ca^{2+} на Sr^{2+} , но не Ba^{2+} и Mg^{2+} . Показано, что ГПК обладает низкой эффективностью как индуктор Ca^{2+} -зависимой проницаемости липосом, загруженных сульфородаминоом Б (СРБ). В тоже время установлено, что добавление Ca^{2+} к липосомам, содержащим ГПК, индуцирует значительное увеличение размера частиц в суспензии, что может быть опосредовано образованием агрегатов и/или слиянием везикул. Показано, что ГПК в присутствии Ca^{2+} также индуцирует агрегацию митохондрий печени, которая сопровождается пермеабиллизацией органелл и выходом из них проапоптотического белка цитохрома *c*. Обсуждается вопрос, как подобный механизм может быть связан с токсическим эффектом ГПК на клетки эукариот.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 17.4999.2017/8.9).

ПРИМЕНЕНИЕ УБИХИНОНА-10 И МАТОЧНОГО МОЛОЧКА ПЧЕЛ В УСЛОВИЯХ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Е. С. Дубкова, Е. В. Крылова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
elena.dubckova2016@yandex.ru

Как известно, любые физические нагрузки, особенно высокой мощности, могут привести к изменению функциональных и биохимических показателей организма. В качестве корректоров и протекторов подобных состояний выделяют природные, родственные организму человека и животных, вещества и соединения, такие как убихинон-10 и маточное молочко пчел. Для более точного обоснования активности препаратов, необходимо знать какие морфофункциональные изменения, лимитирующие работоспособность, происходят в крови во время физической нагрузки.

Для оценки адаптогенной активности веществ применена методика с использованием животных – тест Порсолта – однократное и 10-кратное «принудительное плавание с отягощением до отказа». В эксперименте животных контрольной и трех опытных групп подвергали плаванию «до отказа» с грузом, составляющим 10% от массы тела крысы. Когда животное было не в состоянии удержаться над поверхностью воды самостоятельно, его вынимали из воды. После проведения эксперимента крыс декапитировали и производили забор крови для исследования.

Животным опытных групп перед моделированием однократного и во время проведения 10-кратного «плавания до отказа» в течение 10 дней скармливали через зонд: 1 – нативное маточное молочко (в дозе 100 мг/кг) в виде свежеприготовленного водного раствора, 2 – убихинон-10 (в дозе 15 мг/кг), смешанный с оливковым маслом, и 3 – комбинацию растворов нативного маточного молочка и убихинона-10 в тех же дозах.

В ходе работы фиксировали: продолжительность активного и пассивного плавания крыс. В крови определяли количества эритроцитов и лейкоцитов и содержание гемоглобина.

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 13.2 для Windows. Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента с вычислением средней величины и стандартного отклонения.

Полученные результаты показали, что субмаксимальная физическая нагрузка вызвала изменение морфологических показателей крови, а именно уменьшение количества эритроцитов и содержание гемоглобина в них. Маточное молочко пчел и убихинон-10 способствовали увеличению количества эритроцитов и содержания гемоглобина в крови по сравнению с контрольной и интактными группами при однократной нагрузке. Результаты гематологических анализов периферической крови при 10-кратной нагрузке свидетельствуют о более легкой переносимости физических нагрузок на фоне скармливания исследуемых веществ.

В группах с предварительным скармливанием убихинона-10 и маточного молочка наблюдали значительное возрастание физической работоспособности, оцениваемой по времени «плавания до отказа с отягощением». Максимальное увеличение показателей при однократной физической нагрузке, а именно времени активных движений на 200%, пассивных движений на 122% наблюдалось при комплексном скармливании веществ (опыт 3). Схожая тенденция наблюдалась во время проведения 10-кратного плавания «до отказа» и максимальных показателей достигло при совместном применении убихинона-10 и маточного молочка пчел. Так, время активных и пассивных движений увеличилось на 90% и 70%, соответственно, по отношению к контрольной группе животных и на 807% и 410% по сравнению с первым днем эксперимента.

Таким образом, маточное молочко и убихинон-10 повышают физическую работоспособность, поддерживают и улучшают морфофункциональные показатели крови в условиях физической нагрузки. При этом совместное применение исследуемых веществ превышает аналогичные показатели при их отдельном введении животным.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ТЕТРА(4-(БЕНЗИЛОКСИ)ФЕНИЛ)ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА НА ПОВЕРХНОСТНЫЕ СВОЙСТВА ЛИПОСОМ

Д. В. Дьякова¹, С. А. Лермонтова^{1,2}, Р. Альзеибак¹, Л. Г. Клашина^{1,2}, А. В. Юдинцев¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

daryadyakova@mail.ru

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

В настоящее время разработка новых препаратов, обладающих высокой избирательностью по отношению к опухолевым клеткам, является приоритетной задачей биомедицины. Один из наиболее эффективных способов увеличения селективности лекарств основан на применении липосом в качестве систем доставки. Использование липосом позволяет снизить токсичность, увеличить терапевтический индекс и улучшить фармакокинетические и фармакодинамические профили загруженных в везикулы препаратов по сравнению с препаратами в свободной форме. Важным этапом при разработке липосомальных форм является изучение влияния исследуемых препаратов на физико-химические свойства липидного бислоя. В частности, анализ изменений поверхностных свойств липосом позволяет предсказать их стабильность. Цель данной работы заключалась в исследовании влияния фотосенсибилизатора тетра(4-(бензилокси)фенил)тетрацианопорфиразина на локальный поверхностный потенциал и дзета-потенциал однослойных липосом, состоящих из яичного фосфатидилхолина (ФХ) и его смесей с холестерином (ФХ:Хол, 3:2) и фосфатидилглицеролом (ФХ:Хол:ФГ, 6:3:1).

Липосомы получали методом экструзии. Дзета-потенциал липосом определялся методом электрофоретического рассеяния света. Локальный поверхностный потенциал мембран оценивался при помощи индикаторного красителя бромтимолового синего (БТС).

Обнаружено, что поверхностный потенциал всех видов исследуемых липосом имеет отрицательное значение, зависящее от липидного состава мембран. Загрузка порфиразина в липосомы приводит к изменению локального поверхностного потенциала мембран с -16 мВ до -7 мВ в везикулах из ФХ, с -30 мВ до -37 мВ в ФХ:Хол и с -34 мВ до -41 мВ в ФХ:Хол:ФГ липосомах. Данные результаты хорошо коррелируют с результатами измерения дзета-потенциала. Загрузка исследуемого фотосенсибилизатора в ФХ-липосомы сопровождалась снижением абсолютного значения дзета-потенциала мембран на 43%. В то время как в ФХ:Хол и ФХ:Хол:ФГ липосомах наблюдался противоположный эффект – добавление фотосенсибилизатора приводило к увеличению модуля дзета-потенциала на 38-42% по сравнению с пустыми липосомами. Максимальное по модулю значение дзета-потенциала (-27 ± 2 мВ) наблюдалось в ФГ-содержащих липосомах.

Возможной причиной наблюдаемых разнонаправленных изменений потенциала мембран под влиянием порфиразинового фотосенсибилизатора является различная локализация исследуемого препарата в липидном бислое. При этом положение молекул препарата определяется наличием свободного объема мембраны. В ФХ-липосомах тетра(4-(бензилокси)фенил)тетрацианопорфиразин может глубже проникать в мембрану и частично компенсировать отрицательный поверхностный потенциал. Напротив, в Хол-содержащих липосомах, молекулы фотосенсибилизатора могут быть расположены на поверхности мембраны. Учитывая, что частицы с дзета-потенциалом менее ± 25 мВ обладают склонностью к агрегации, можно заключить, что ФХ:Хол:ФГ липосомы будут иметь наибольшую стабильность среди используемых в данной работе типов везикул.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации проект № 6.7083.2017 / 9.10 и №14.Z50.31.0022.

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКАЯ ПОДВИЖНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ, ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА И СОСТОЯНИЕ ПРО-И АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ТЕРАПИИ БОТУЛОТОКСИНОМ А МЫШЕЧНОЙ ДИСТОНИИ

М. С. Дьячкова¹, Д. В. Сердцева¹, В. А. Суворова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *ibbm@unn.ru*

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603950, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Дистония – клинический синдром, характеризующийся неритмичными медленными насильственными движениями в различных частях тела. В наше время существуют методы лечения, которые позволяют облегчить состояние пациентов, но не приводят к полному излечению. Препараты ботулотоксина А (БТА) рекомендованы как первая линия лечения при спастической кривошее, блефароспазме, лицевом гемиспазме. Однако в литературе не рассмотрен вопрос о развитии стрессовой реакции на фоне дистонии и использовании БТА. В качестве критериев стресс-реакции в работе были выбраны электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), лейкоцитарная формула и состояние окислительного стресса. Цель работы – исследование ЭФПЭ, лейкоцитарной формулы, состояния про- и антиоксидантных процессов в эритроцитах больных с диагнозом мышечная дистония в ходе лечения ботулотоксином А.

Результаты исследования показали, что до начала лечения у пациентов наблюдалось увеличение концентрации МДА. Введение ботулотоксина А приводило к снижению МДА, наиболее выражено после недели лечения, о чем свидетельствовало восстановление показателя до значений нормы. При сравнении показателей активности каталазы до лечения с физиологической нормой зафиксировано превышение ее активности 2,6 раза, что говорит о повышенной нагрузке антиоксидантной системы из-за высокого содержания продуктов ПОЛ. В пробах, взятых через неделю после начала лечения, активность каталазы уменьшилась в 1,1 раз, по истечении месяца после начала лечения активность каталазы уменьшилась в 1,5 раза по сравнению с пробами, взятыми через неделю после начала лечения. Полученные результаты свидетельствуют о восстановлении баланса про- и антиоксидантных процессов при действии ботулотоксина.

Исследование ЭФПЭ показало, что при фокальной мышечной дистонии наблюдалось значительное снижение ЭФПЭ при поступлении больных в стационар относительно уровня физиологической нормы, что составило снижение показателя на 22%. ЭФПЭ после проведения терапии ботулотоксином А значительно возросла, но не достигла значений контроля.

Кроме того, при фокальной мышечной дистонии наблюдалось значительное снижение количества лимфоцитов, гранулоцитов и увеличение количества моноцитов при поступлении больных в стационар относительно уровня физиологической нормы, что составило изменение показателей на 21%, 36% и 51% соответственно. Число лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов после проведения терапии ботулотоксином А восстанавливалось, однако не достигало значений контроля.

Таким образом, мышечная дистония сопровождается стрессовой реакцией в организме, развитие которой ограничивается введением ботулотоксина А.

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА РОДИТЕЛЕЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ ПОЛОВОГО ПОВЕДЕНИЯ У ПОТОМКОВ ИМАГО ДРОЗОФИЛ

Ю. А. Емелина, В. В. Костенко

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23; *emelina-yulya@mail.ru*

²Казанский федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18

Половое поведение (ПП) дрозофилы организовано как комплексный физиолого-биохимический признак и состоит из определенных последовательных этапов, которые, как правило, повторяются несколько раз, пока не произойдет спаривание. Эти этапы включают обмен зрительных, звуковых и хемосенсорных сигналов между партнерами. Как и для любого другого признака ПП в процессе формирования в онтогенезе подвержен влиянию целого ряда факторов, как внутренней среды организма, так и окружающей среды. Возрастные изменения в организме такие как, снижение интенсивности внутриклеточного метаболизма вследствие различных структурно-функциональных изменений генетического материала или угнетении генной активности могут отражаться в нарушении проявления многих признаков.

Данное исследование посвящено изучению возрастной изменчивости полового поведения у имаго *Drosophila*, мутантных по гену *white*. В работе были использованы мутантные линии w^l_{C-S} , w^a_{C-S} , w^{sat}_{C-S} и линия дикого типа $C-S$ (w^+). Половое поведение оценивали как процент особей, совершивших копуляцию в течение 60 минут. Анализ проводили по двум параметрам: половая активность самцов (ПА) и половая рецептивность самок (ПР).

Возрастную изменчивость полового поведения исследовали у дрозофил разных возрастов: 3-, 10- и 20-дневных имаго. Анализ 3-, 10- и 20-дневных мух с генотипом w^{sat}_{C-S} показал, что они характеризуются высокими значениями ПР самок и ПА самцов в исследуемые возрастные периоды по сравнению с другими аллелями гена *white*. В то время слабопигментированные имаго с генотипами w^l_{C-S} и w^a_{C-S} показали наименьшие значения исследуемых параметров ПП. При этом для 20-дневных стареющих особей были получены нулевые значения ПА самцов. Поскольку репродуктивный успех любого организма оценивается количеством оставленных им потомков, то мы также провели исследование возрастной изменчивости признака плодовитость у исследуемых мутантов. Было установлено, что для особей w^l_{C-S} характерным являются наименьшие значения плодовитости по сравнению с другими аллелями, при этом начиная с 10 дня жизни имаго их плодовитость достигает нулевых значений, что свидетельствует о снижении репродуктивного потенциала.

Мы предполагаем, что возрастные поведенческие аномалии у имаго *Drosophila* с мутациями в гене *white* могут возникать из-за того, что аминергические нейроны в мозге дрозофилы по мере старения организма деградируют и/или снижают высвобождения аминов.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ НАЛИЧИЯ РЕПРЕССОРА ТРАНСКРИПЦИИ VCL-6 С ЭКСПРЕССИЕЙ МЕМБРАННЫХ МОЛЕКУЛ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК
***В. В. Ермакова*¹, *Е. В. Воронина*², *М. В. Талаева*², *И. Е. Заиченко*², *О. О. Школа*¹,
*В. Ю. Талаев*²**

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Psichorette@gmail.com

²Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Репрессор транскрипции Vcl-6 (белок 6 В-клеточной лимфомы) играет значительную роль в развитии и дифференциации нескольких типов клеток иммунной системы. Данный транскрипционный фактор был обнаружен в В-лимфоцитах, фолликулярных Т-хелперах, макрофагах, моноцитах, а также в дендритных клетках. Наиболее изучена функция Vcl-6 для В-лимфоцитов, где он репрессирует широкий спектр генов, что, в конечном итоге, формирует толерантность к повреждениям ДНК во время соматической рекомбинации генов иммуноглобулинов. Нарушения в системе контроля этого транскрипционного фактора становятся причиной возникновения В-клеточной лимфомы. Последние данные свидетельствуют о том, что уровень экспрессии Vcl-6 в дендритных клетках намного выше, нежели в других типах клеток, однако, до сих пор функции, которые он выполняет в дендритных клетках, и сигналы, приводящие его в действие, не ясны. Цель работы – исследование связи наличия транскрипционного фактора Vcl-6 с экспрессией мембранных молекул дендритных клеток человека *in vitro*.

Объектом исследования явились дендритные клетки, полученные с помощью добавления цитокинов GM-CSF и IL-4 к моноцитам, выделенным из венозной крови человека. В качестве контроля использовали моноциты без добавления цитокинов. Для оценки экспрессии Vcl-6 и выявления связи с экспрессией молекул характерных для дендритных клеток использовали метод окраски поверхностных и ядерных белков и проточную цитофлюориметрию. Показано, что экспрессия Vcl-6 в моноцитах падала при культивировании и на 3 сутки практически отсутствовала. Напротив, при дифференцировке моноцитов в дендритные клетки уровень экспрессии Vcl-6 возрастал по сравнению с исходным на 3 сутки, и продолжал увеличиваться до 5 суток. На 7 сутки культивирования уровень Vcl-6 сохранялся на высоком уровне, однако наблюдалась стойкая тенденция к снижению количества клеток, экспрессирующих Vcl-6.

Было выявлено, что с 3 по 7 сутки Vcl-6 активнее синтезировался в созревающих дендритных клетках с низким содержанием HLA-DR, хотя на 1 сутки культивирования высокий уровень продукции Vcl-6 был характерен для дифференцирующихся клеток с большим содержанием HLA-DR.

Также установлено, что к 3 суткам уровень Vcl-6 был выше в клетках, сохраняющих экспрессию моноцитарного маркера CD14 как в культурах моноцитов, так и в культурах дендритных клеток при том, что в свежевыделенных моноцитах подобной разницы не наблюдалось.

СКРИНИНГ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ УРАЛА

А. А. Ермошин, П. А. Балабанов, И. С. Киселева

Уральский федеральный университет, 620000, Екатеринбург, просп. Ленина, 51
Alexander.Ermoshin@urfu.ru

Трутовые грибы Урала практически не используются человеком как источники биологически активных веществ (БАВ). Биохимия этих грибов также мало изучена. Пожалуй, только чага *Inonotus obliquus* и *Ganoderma lucidum* используются в официальной медицине России и Европы, тогда как в народной медицине стран юго-восточной Азии стран трутовые грибы используются широко. Для этих грибов показана противоопухолевая, антивирусная, иммуномодулирующая активность; обнаружены такие БАВ как полифенолы, тритерпены, стероиды. Имеются данные о наличии в них алкалоидов.

Целью исследования было обнаружение основных групп БАВ в плодовых телах 2 видов широко распространенных на Урале трутовых грибов – *Piptoporus betulinus* и *Fomitopsis pinicola*. Для этого была проведена экстракция БАВ из плодовых тел, качественный фармакогностический анализ экстрактов, а также сравнение химического состава плодовых тел, выросших на разных субстратах.

В качестве экстрагентов использовали воду, этанол и 5 Н соляную кислоту. Анализировали плодовые тела *P. betulinus*, произраставших на березе (*B. pendula*) и тополе (*P. balsamifera*), и *F. pinicola*, произраставших на сосне (*P. sylvestris*) и березе (*B. pendula*).

В солянокислом гидролизате БАВ не обнаружены. В этанольном экстракте обнаружены алкалоиды (положительными были 5 осадительных реакций из 6 использованных) и фенольные соединения. Различий по наличию этих соединений у разных видов и между образцами одного вида, обитающими на разных субстратах, не выявлено. Только у вида *F. pinicola* в сухом экстракте показано наличие дезоксисахаров. Стероидные соединения обнаружены во всех образцах, кроме *P. betulinus*, произрастающем на тополе. В водном экстракте обнаружены флавоноиды. Их качественный состав варьировал в зависимости от вида и субстрата. Анализ экстрактов методом бумажной хроматографии показал наличие от 8 до 16 типов свободных аминокислот, в том числе незаменимых.

Таким образом, показано наличие БАВ у *P. betulinus* и *F. pinicola*, обитающих на Среднем Урале. Обнаружены видовые и субстратные особенности химического состава этих грибов.

НОВЫЕ НАХОДКИ АРКТИЧЕСКОГО РЕЛИКТОВОГО ВИДА *HOLOPEDIUM GIBBERUM* (CRUSTACEA: CLADOCERA) В ОЗЕРАХ КЕРЖЕНСКОГО БИОСФЕРНОГО ЗАПОВЕДНИКА

В. С. Жухарев, Г. В. Шурганова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
slava.zhiharev@ro.ru

Изучение распространения редких реликтовых видов гидробионтов является актуальной задачей гидроэкологии. Представителем таких видов является арктический реликтовый ветвистоусый рачок *Holopedium gibberum*. Ранее считалось, что основными местообитаниями этого вида являются реликтовые водоемы, сохранившиеся со времен оледенения. Однако современные исследования свидетельствуют о том, что этот вид населяет водоемы разного происхождения, разных морфометрических и гидрологических типов. Выявление мест обитания этого вида в водных объектах Нижегородской области является важной задачей с точки зрения сохранения биоразнообразия.

На территории Нижегородской области арктический реликт был обнаружен лишь в нескольких глубоководных озерах Нижегородского Заволжья и Предволжья. Вид внесен в Красную книгу Нижегородской области как редкий, находящийся на границе ареала. В пределах Керженского заповедника *H. gibberum* был найден только в глубоководных озерах Черное и Пустынное. Таким образом, установление и характеристика новых местообитаний *H. gibberum* весьма актуально.

Цель исследования – анализ новых находок арктического реликтового вида *H. gibberum*, его экологических предпочтений и роли в структуре сообществ зоопланктона некоторых водоемов Керженского заповедника. Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, отобранные в пойменных озерах Керженского заповедника в июле 2017 года. Сбор и обработка проб осуществлялись с использованием общепринятых в практике гидробиологических исследований методов.

В результате обследованных восьми озер Керженского биосферного заповедника рачок *H. gibberum* был обнаружен в двух: оз. Черный Яр и оз. Сиротинное. Видовая структура сообществ зоопланктона водоемов существенно различалась. В оз. Черный Яр большая часть видов была представлена коловратками (61,0% от общего числа видов), в то время как в оз. Сиротинное доминирующей группой являлись ракообразные (57,0% от общего числа видов). В сообществе зоопланктона оз. Черный Яр арктический реликт являлся видом доминантом, его численность составляла $21,93 \pm 3,55$ тыс. экз./м³ (21,9% от общей численности зоопланктона). В зоопланктоценозе оз. Сиротинное рачок также входил в комплекс видов-доминантов. Его численность была в 4 раза меньше и составляла 5,10 тыс. экз./м³ (13,7% от общей численности зоопланктона).

Водоемы, в которых был обнаружен рачок *H. gibberum* являются олиготрофными со слабоминерализованными (19,0–22,0 мг/л), слабокислыми (6,1–6,4 у.е.) водами с высокой цветностью (93,3–143,3 град.), а также относительно невысоким содержанием растворенного кислорода (3,1–4,2 мг/л). Поскольку некоторые озера Низменного Заволжья имеют ряд параметров (низкие значения минерализации и pH, а также высокие значения цветности), характерных для северных водоемов тайги и тундры, где этот вид широко распространен, они становятся благоприятными для обитания (и даже массового развития) в них арктического реликтового вида *H. gibberum*.

Таким образом, впервые отмеченный для озер Черный Яр и Сиротинное представитель арктической фауны ветвистоусых *H. gibberum* в обоих водоемах являлся доминирующим видом и играл значительную роль в видовой структуре сообществ зоопланктона. Результаты исследований позволяют рекомендовать внесение изученных водоемов в Красную книгу Нижегородской области в качестве местообитаний *H. gibberum* – редкого для нашей области вида ветвистоусых ракообразных.

СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЛУГОВЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ ПОЙМЫ РЕКИ МАЛАЯ КОКШАГА

Л. А. Заболотских, М. В. Бекмансуров

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
lyba19953@mail.ru

Структурное разнообразие – это многообразие структурных элементов сообществ, которое является следствием зональности, стратифицированности, пространственной гетерогенности и других способов ранжирования компонентов различных местообитаний. Структурное разнообразие фитоценозов также связано с неоднородностью пространственной структуры сообществ, разнообразием синузий, наличием видов различных экологических, эколого-ценотических групп (ЭЦГ) и жизненных форм растений. Цель работы – оценить структурное разнообразие исследованных луговых фитоценозов с использованием спектров ЭЦГ и жизненных форм сосудистых растений.

Для оценки параметров биоразнообразия растительного покрова в 2002, 2016 и 2017 гг. в луговых фитоценозах поймы р. Малая Кокшага выполнены геоботанические описания на пробных площадях размером 400 м². Структурное разнообразие растительных сообществ оценивали с использованием спектров ЭЦГ и жизненных форм сосудистых растений. Для характеристики структурного разнообразия был проведен анализ жизненных форм сосудистых растений по классификации И. Г. Серебрякова и Х. Раункиера.

По классификации И. Г. Серебрякова нами были выявлена 21 жизненная форма. На исследованных лугах преобладали многолетние травянистые растения, из которых доминировали стержнекорневые, длиннокорневищные и рыхлокустовые виды. По сравнению с 2002 г. в 2016 и 2017 гг. появились такие жизненные формы, как клубнеобразующий стержнекорневой многолетник, дерево и кустарник. Значительно сократилось количество многолетних монокарпиков, ползучих и двулетних видов сосудистых растений. В период 2016–2017 гг. произошли несущественные изменения – уменьшилось количество надземностолонных и наземноползучих видов сосудистых растений. Преобладание в спектре жизненных форм стержнекорневых растений обусловлено хорошей дренированностью лугов. Занимающие второе место по числу видов длиннокорневищные растения характерны для пойменных лугов, характеризующихся наличием слоя наилка, способствующего их вегетативному разрастанию.

Произрастающие на исследованных лугах растения относятся к 6 жизненным формам, выделенным по классификации Х. Раункиера. Преобладающее большинство видов – гемикриптофиты. На всех пробных площадях также присутствуют криптофиты и хамефиты. За период с 2002 по 2016 гг. появились фанерофиты и сократилось количество криптофитов. В 2017 г. по сравнению с предыдущим годом наблюдается незначительное уменьшение гемикриптофитов, геофитов и терофитов.

На исследованных лугах произрастают виды восьми ЭЦГ сосудистых растений. Преобладающими являются группы видов свежих и сухих лугов, а также опушечные виды. На всех пробных площадях встречаются виды неморальной ЭЦГ, которые характерны для пойменных лесов. В 2016 г. по сравнению с 2002 г. было выявлено значительное снижение количества видов свежелуговой и сухолуговой ЭЦГ, а также увеличение количества видов неморальной ЭЦГ.

Таким образом, присутствие видов древесных жизненных форм и лесных ЭЦГ на исследованных лугах свидетельствует о начальных этапах их деградации, которая при отсутствии сельскохозяйственного использования будет в дальнейшем только усиливаться и приведет к смене луговых экосистем лесными.

ВЛИЯНИЕ РАЗРУШЕНИЯ ГИАЛУРОНОВОГО МАТРИКСА ПЕРИГИППОКАМПАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ МОЗГА НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ У МЫШЕЙ В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ

О. Г. Заборская¹, А. Н. Балашова¹, И. В. Мухина²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
zaborskaya_o@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Внеклеточный матрикс мозга (ВКМ) в нейронных сетях сохраняет связи, установившиеся в нейрональной сети, и тем самым сохраняет оптимальные условия для передачи и обработки информации (Vikbaev et. al., 2015). Основной компонент ВКМ – гиалуроновая кислота выполняет функцию поддержания физико-химических свойств матрикса, но появляется все больше доказательств того, что гиалуронан также изменяет функциональные свойства нейронов: характеристика распределения гиалуроновой кислоты изменяется в ходе развития мозга и является показателем функциональных свойств формирующейся нервной системы. Таким образом, в результате патологического ремоделирования ВКМ в неонатальном периоде возможны многочисленные вторичные отдаленные функциональные и структурные изменения в ЦНС.

Целью данного исследования была оценка распределения микроинъекции и динамики влияния введения гиалуронидазы в перигиппокампальную область мозга у неонатальных мышей линии C57BL/6 (возраст 17 дней) на общее состояние базовых поведенческих рефлексов и структуру ткани мозга. Стереотаксические координаты введения (Bregma -2 mm: 1,76 mm: 1,5 mm) веществ были подобраны заранее, в ходе адаптации методики для животных раннего неонатального периода. Поведенческое фенотипирование проводилось по тестам «Открытое Поле» (выявление нарушений базовой и исследовательской активности) и Объектное распознавание (тест на воспроизведение рабочей памяти животного). Было проведено иммуногистохимическое маркирование нейроспецифического белка MAP-2 и агрекана (одного из протеогликанов внеклеточного матрикса мозга) в оперированной области и уточнение характера распределения инъекции посредством введения метиленового синего.

В результате сравнения животных, перенесших билатеральную микроинъекцию гиалуронидазы с контрольной группой (инъекция забуференного физиологического раствора) и интактной группой животных того же возраста, были сделаны следующие выводы. Тест открытого поля через 2 часа после введения гиалуронидазы выявил черты гиалуронидаза-зависимого поведения в виде повышенной тревожности в ответ на окружающую новизну, о чем свидетельствует снижение количества входов в центральную зону и отсутствие актов груминга. К 3-м суткам отмечено появление актов груминга и снижение продолжительности вертикальной активности, что говорит об угнетении ориентировочно-исследовательского рефлекса. Отмечено ухудшение формирования и воспроизведения теста на объектное распознавание на 3 сутки после инъекции фермента гиалуронидазы. После гистологического исследования в области стереотаксической микроинъекции фермента было установлено, что большая часть инжестируемого раствора диффундирует в гиппокампальную дорсальную область и лишь незначительная часть осаждается на эндимиоцитах желудочков, что позволяет говорить о том, что гиалуранидаза-зависимые поведенческие паттерны были вызваны ремоделированием ВКМ перигиппокампальной области.

СИСТЕМАТИКА И ФИЛОГЕНЕТИКА БЕСКИШЕЧНЫХ ТУРБЕЛЛЯРИЙ (ASCOELA) НА ОСНОВЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ПРИЗНАКОВ

Я. И. Заботин

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Yaroslav_Zabotin@rambler.ru

Бескишечные турбеллярии (Acoela) представляют собой загадочную группу морских червеобразных беспозвоночных с уникальной морфологией и неустойчивым систематическим положением в животном царстве. В частности, дискуссионным до сих пор остается вопрос о прогрессивной или регрессивной эволюции этой необычной группы, имеющий большое значение для понимания эволюции Bilateria в целом.

Систематика бескишечных турбеллярий также остается недостаточно разработанной из-за нехватки ультраструктурных данных. С целью реконструкции филогенетических отношений внутри таксона Acoela было предпринято электронно-микроскопическое исследование различных тканей и систем органов четырех видов Acoela из различных семейств: *Archaphanostoma agile* (Isodiametridae), *Otocelis rubropunctata* (Otocelididae), *Symsagittifera japonica* (Sagittiferidae) и *Amphiscolops* sp. (Convolutidae). При этом особое внимание уделялось таксономически значимым ультраструктурным особенностям эпидермиса, кожной мускулатуры, сперматозоидов и копулятивных органов.

Представители *A. agile* были собраны на литорали различных островов Керетского архипелага (губа Чупа, Белое море, Россия), остальные три вида – на литорали острова Мукайшима (Внутреннее Японское море, Япония). Черви были зафиксированы целиком в 1% глютаровом альдегиде на 0,1 М фосфатном буфере и подготовлены для трансмиссионной электронной микроскопии по стандартной методике.

На основе оригинальных и литературных данных был прослежен эволюционно-морфологический ряд ультраструктурных признаков Acoela. *A. agile*, представитель наиболее архаичного семейства среди исследованных, характеризуется непогруженным эпидермисом, слабо упорядоченными слоями кожной мускулатуры, «классической» формулой аксонемы жгутиков сперматозоидов 9+2 и кортикальным положением свободных микротрубочек.

Напротив, к наиболее высокоорганизованным семействам Acoela принадлежат Sagittiferidae и Convolutidae, отличающиеся погруженным эпидермисом, специализированной формулой аксонемы 9+0, аксиальными (центральными) микротрубочками и женскими копулятивными органами – бурсами, снабженными мощными кутикулярными наконечниками. Центральная синцитиальная паренхима *S. japonica*, выполняющая у бескишечных турбеллярий фагоцитарную функцию, обладает мускульной выстилкой, вероятно, для интенсификации пищеварительных процессов. *Amphiscolops* sp. выделяется среди остальных исследованных видов необычным порядком расположения мышечных слоев (диагональная мускулатура залегает глубже кольцевой и продольной), поперечно-полосатой кожной мускулатурой и наличием опорных «губчатых тел» в цитоплазме сперматозоидов.

Промежуточное положение занимает вид *O. rubropunctata*, обладающий еще непогруженным эпидермисом, но вместе с тем прогрессивными особенностями строения сперматозоидов. Аксонемы жгутиков начинаются как 9+2, но заканчиваются как 9+0, а свободные микротрубочки меняют свое положение с дистального в хвостовом отделе на аксиальное в «головке». Вероятно, семейство Otocelididae, обладающее спорным таксономическим статусом, нуждается в дополнительной ревизии.

Несомненно, обнаруженные новые ультраструктурные признаки (наряду с молекулярно-генетическим анализом) могут найти свое применение в систематике и таксономии бескишечных турбеллярий. В ходе данного исследования не было выявлено особенностей, свидетельствующих о вторичном упрощении организации этой группы беспозвоночных. По нашему мнению, полученные результаты свидетельствуют о прогрессивной, а не регрессивной эволюции Acoela.

ДИНАМИКА ВЕГЕТАТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТУДЕНТОВ КОЛЛЕДЖА ПЕРВОГО И ВТОРОГО ГОДОВ ОБУЧЕНИЯ

М. А. Заздравная, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
m.zazdravnay@mail.ru

Современная социальная динамика общества предъявляет особые требования к системе среднего профессионального образования. Изучение современных тенденций здоровья студентов является важной задачей для обеспечения здоровья учащейся молодежи. Необходимы методы, которые позволяют быстро и информативно получать данные о состоянии организма и рано прогнозировать его нарушения. В связи с этим, целью данной работы ставилось изучение вегетативного состояния организма и уровня адаптации студентов в ходе первого и второго годов обучения в колледже.

Материалом для работы послужили данные обследования 30 учащихся «Университетского экономико-технологического колледжа» г. Сочи в возрасте 16–17 лет, которые обучались на специальностях «Экономика и бухгалтерский учет». В основу исследования были положен метод компьютерной диагностики – цифровой анализатор биоритмов «Омега-М». В ходе работы были проанализированы изменения уровня адаптации к физическим нагрузкам, индекс вегетативного равновесия, индекс напряженности.

Проведенное исследование выявило, что в период осень-весна у студентов первого года обучения регистрировалось увеличение индекса вегетативного равновесия (ИВР) на 6% к весеннему периоду относительно осени. Индекс напряжения (ИН) увеличивался на 9% в весенний период. Исследование данных показателей в период осень-весна у студентов второго года обучения, напротив, выявило снижение ИВР и ИН к концу окончания учебного года. Показатели уровня адаптации организма к физическим нагрузкам соответствовали оценке «хорошее» (60–80 %) как в осенние, так и в весенние периоды обоих годов обучения. Однако следует отметить, что ко второму году обучения у студентов уровень адаптации к осеннему периоду (т.е. к началу обучения) стал ниже по сравнению с исходным уровнем при поступлении в колледж.

Результаты исследования демонстрируют изменения исследуемых показателей на первом и втором годах обучения студентов в колледже. На первом году обучения увеличение ИВР и ИН у студентов в процессе учебы свидетельствует о большем вкладе симпатической компоненты в индекс вегетативного баланса, что указывает на повышение функционального напряжения организма. При этом второй год обучения у студентов характеризовался снижением активности симпатической нервной системы, что может быть обусловлено пониманием и приспособлением к процессу обучения в колледже. На втором курсе у студентов возникает новая мотивация, они приступают к изучению специальных дисциплин, что, по всей видимости, способствует повышению заинтересованности в учебном процессе и, как следствие, к восстановлению баланса гомеостатической регуляции организма и снижению уровня напряжения.

Таким образом, функциональное состояние студентов, по данным ПАК «Омега-М», не выходит за пределы физиологической нормы, следовательно, не ведет к нарушению гомеостаза, перенапряжению регуляторных механизмов и значительному истощению функциональных резервов, однако актуализирует проблему организации учебного процесса с учетом количественных снижений функциональных возможностей организма студента в течение первого года обучения.

БИОМАССА РАСТЕНИЙ ТРАВЯНО-КУСТАРНИЧКОВОГО ЯРУСА В ОСИННИКАХ

А. В. Закамский

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
zak1986@yandex.ru

В Республике Марий Эл общая площадь осинников составляет 55,6 тыс. га. Продукционные процессы в этих лесах изучены недостаточно полно. В основном объектом исследования является древесный ярус. Целью настоящей работы является оценка накопления первичного органического вещества в травяно-кустарничковом ярусе в ходе сукцессионного процесса осиновых лесов.

Исследования проводились в осинниках снытевых с возрастом древостоя 25, 30, 40 и 50 лет. В ходе работы определялась только наземная биомасса в воздушно-сухом состоянии. Экологические условия местообитаний оценивали фитоиндикационными методами по шкалам Цыганова.

Все изученные фитоценозы характеризуются влажно-лесолуговым увлажнением, от бедных до достаточно обеспеченных азотом, слабокислыми почвами.

При изучении биомассы ценопопуляций травяно-кустарничкового яруса 25-летнего осинника липово-снытевого было установлено, что биомасса растений данного яруса составляет $21,2 \pm 4,27$ г/м² или 212 кг/га. В состав травяно-кустарничкового яруса входят ценопопуляции (ЦП) 11 видов растений. Основной вклад в суммарную фитомассу вносят популяции сныти обыкновенной, осоки волосистой, и копытня европейского, их доля составляет 91% (соответственно 55,7; 21,3; 14,1%). На остальные 9 ЦП приходится всего 9%, но и в этом случае их доля неодинакова и варьирует от 0,04 до 0,54 г/м².

В осиннике липово-снытевом с возрастом древостоя 30 лет мы наблюдаем статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение биомассы ЦП травяно-кустарничкового яруса по сравнению с предыдущим сообществом. Суммарная фитомасса ЦП 19 видов растений в данном ценозе составила $71,9 \pm 9,36$ г/м² или 719 кг/га. Наибольший вклад приходится на ЦП сныти обыкновенной, однако по сравнению с предыдущим фитоценозом он меньше и составляет 37,3%, хотя в абсолютном значении ($26,8$ г/м²) этот показатель выше, чем в предыдущем ценозе. На втором месте по запасу сухой массы находится ЦП медуницы неясной ($8,5$ г/м² или 11,8 %).

Показатель общей биомассы травяно-кустарничкового яруса в осиннике медуницево-снытевом с возрастом древостоя 40 лет составил $74,1 \pm 8,32$ г/м². Запасы ЦП медуницы неясной составили $22,9 \pm 1,14$ г/м² или 30,9 %, сныти обыкновенной $11,8 \pm 0,96$ г/м² (16,0%). В этом сообществе велика также доля щитовника мужского (13,1%) и звездчатки жестколистной (7,7%). Вклад ЦП остальных 19 видов колеблется от 2,5 до 7,4%.

Осинник липово-снытевый с возрастом древостоя 50 лет находится на втором этапе демулационного процесса лесного сообщества, когда осина переходит в старое генеративное состояние, отдельные особи начинают выпадать, и под ее пологом начинает формироваться нижний подъярус древостоя. Однако изменения в травяно-кустарничковом ярусе происходят значительно медленнее, чем в древесном, в данном фитоценозе продолжает доминировать сныть обыкновенная. Основной запас фитомассы приходится именно на ЦП этого вида и составляет почти 65%. На долю пролесника многолетнего, таволги вязолистной, страусника обыкновенного, хвоща лугового, щитовника мужского, копытня европейского, борца высокого, медуницы неясной приходится от 1,2 до 9,5%. Биомасса ЦП остальных 17 видов составляет десятые и сотые доли процента от общей фитомассы травяно-кустарничкового яруса, которая равна $82,7 \pm 11,24$ г/м² или 827 кг/га.

Таким образом, в ходе сукцессионного процесса осинников происходит нарастание запасов органического вещества в травяно-кустарничковом ярусе.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ДИ(2-ПИРИДИЛ-1-ОКСИД)ДИСЕЛЕНИДА НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *ASPERGILLUS ORYZAE*

С. А. Залепкина, В. Ф. Смирнов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
biodeg@mail.ru

В настоящее время одним из важнейших направлений исследований свойств селенорганических соединений является выявление их биологической активности, а также механизмов их биологического действия. Ранее считалось, что элементарный селен и различные его соединения обладают хорошими антиоксидантными свойствами. Впоследствии было показано, что в высоких концентрациях селен и его соединения, наоборот, вызывают образование свободных радикалов, что приводит к снижению жизнеспособности клеток. В последнее время синтезированы селенорганические соединения способные угнетать жизнедеятельность микроорганизмов, в том числе условно патогенных, что позволяет использовать данные соединения в ветеринарии и медицине. Весьма перспективно может быть использование органических селенсодержащих соединений в качестве технических биоцидов – средств защиты промышленных материалов от биоповреждений, вызываемых микроскопическими грибами. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение возможных механизмов фунгицидного действия селенсодержащего соединения, ди(2-пиридил-1-оксид)диселенида, на метаболизм микроскопического гриба, одного из активных биодеградантов промышленных материалов, *Aspergillus oryzae* RIB40. Для этого нами использовался микрочиповый анализ ДНК, показывающий изменения уровня экспрессии всех генов организма под воздействием различных факторов, а, следовательно, позволяющий наиболее полно отследить влияние химических соединений на метаболизм.

Мы использовали общую РНК выделенную из образцов мицелия *A. oryzae* RIB40 после 30 минутного воздействия 10 мг/л раствора ди(2-пиридил-1-оксид)диселенида в ДМСО или соответствующего количества ДМСО в контрольном эксперименте. Пробы ДНК для гибридизации были получены в ходе реакции обратной транскрипции с Су3- или Су5-мечеными рандомными номерами. Эксперименты проводились в двух повторностях, флуоресцентные сигналы детектировались путем сканирования. Об изменении уровня экспрессии гена под влиянием ди(2-пиридил-1-оксид)диселенида судили по соотношению уровня экспрессии гена в контрольном и в опытном образцах. Микрочиповый анализ ДНК генома показал, что в общей сложности под влиянием ди(2-пиридил-1-оксид)диселенида изменился уровень экспрессии 72 генов. Причем 16 генов показали снижение уровня экспрессии более чем в 2 раза, а 30 – активацию, также в 2 и более раз. Наиболее сильно была подавлена экспрессия генов, участвующих в транспорте ионов меди (АО090120000214, АО090023000430, АО090120000175). Ортологи данных генов кодируют белки, которые участвуют в переносе ионов меди через плазматическую мембрану, аэробном дыхании, прорастании спор, росте гиф. Гены, уровень экспрессии которых увеличился, кодируют разнообразные белки, в том числе шапероны (АО090038000288, АО090113000129), факторы инициации трансляции (АО090020000122, АО090012000783), гидролазы (АО090012000372), редуктазы (АО090005000481, АО090020000347) и т.д. Однако наибольшая активация была обнаружена для генов оксидоредуктаз и ферментов, поддерживающих окислительно-восстановительный гомеостаз. Данные результаты позволяют предположить, что в первую очередь селенсодержащие соединения нарушают окислительно-восстановительное равновесие клеток, вызывая окислительный стресс у *A. oryzae*. А последующие нарушения метаболизма приводят к гибели данного микромицета.

Мы полагаем, что полученные нами данные будут весьма полезны в области создания фунгицидов направленного действия, ингибирующих активность конкретных метаболитов, участвующих в биоразрушении определенных материалов.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ СТАУРОСПОРИН-ИНДУЦИРОВАННОМ АПОПТОЗЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ FLIM МИКРОСКОПИИ

Е. Е. Зеленова², А. И. Гаврина^{1, 2}, М. В. Ширманова², В. В. Дуденкова^{1, 2}, Т. Ф. Сергеева²

¹ Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

² Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *olechka-zimina@mail.ru*

Апоптоз – запрограммированная гибель клетки. Наиболее распространен каспазозависимый механизм апоптоза, при котором активируются эффекторные каспазы и, в частности, каспаза-3. При апоптозе происходит изменение энергетического метаболизма клеток, что можно оценить по автофлуоресценции свободной и связанной с белком формы кофермента НАД(Ф)Н. Для исследований времени жизни белков-флуорофоров применяют конфокальную микроскопию с временным разрешением FLIM. Метод FLIM основан на сканировании исследуемого образца импульсным лазерным излучением высокой частоты, последующей регистрации единичных фотонов флуоресцирующего сигнала и формировании распределения фотонов по времени жизни в течение облучающего лазерного импульса. Конфокальная флуоресцентная микроскопия с FLIM позволяет оценить взаимосвязь углеводного метаболизма с инициацией апоптоза в динамике, что определяет актуальность данного исследования. Целью работы явилось исследование метаболизма при стауроспорин-индуцированном апоптозе методом FLIM микроскопии.

В эксперименте была использована клеточная линия СТ26, стабильно экспрессирующая FRET-сенсор активации каспазы-3 mKate2-DEVD-iRFP. Апоптоз индуцировали с помощью стауроспорина (5мкМ). Для получения изображений использовали лазерный сканирующий микроскоп Carl Zeiss LSM 710 (Carl Zeiss, Германия), укомплектованный FLIM системой для время-разрешенной микроскопии (Becker&Hickl Ltd., Германия).

В опухолевых клетках СТ26, стабильно экспрессирующих FRET-сенсор mKate2-DEVD-iRFP, было отмечено увеличение времени жизни флуоресценции донорного белка mKate2 ($\tau_m=1,58\pm 0,11$ нс и $2,32\pm 0,25$ нс – до и после лечения стауроспорином соответственно), что свидетельствует о расщеплении DEVD-последовательности активированной каспазой-3 при индукции апоптоза стауроспорином. Также выявлен рост процентного вклада времени жизни флуоресценции связанной формы НАД(Ф)Н ($11,86\pm 1,51\%$ до лечения, $47,72\pm 6,35\%$ и $56,74\pm 7,77\%$ через 15 минут и 4 часа после лечения стауроспорином соответственно), что свидетельствует об уменьшении интенсивности гликолиза при индукции апоптоза стауроспорином. Так как рост процентного вклада связанной формы НАД(Ф)Н может быть обусловлен ростом вклада как НАДН, так и НАДФН, была использована трехэкспоненциальная модель анализа свободного НАДН (α_1), связанного с белком НАДН (α_2) и связанного с белком НАДФН (α_3). Было показано, что до воздействия стауроспорина амплитуда свободной компоненты НАДН (α_1) составляла 74,46%, через 30 мин. и 4 часа после лечения 48,07% и 32,74% соответственно. Через 4 часа наблюдалось увеличение вклада связанной формы НАДН α_2 при воздействии стауроспорина до 31,36% с последующим снижением до 23,94% к 24 ч. Начиная с 30 мин после лечения, наблюдалось статистически значимое увеличение α_3 .

На основании полученных результатов на фоне стауроспорин-индуцированного апоптоза были выявлены динамические изменения в энергетическом метаболизме отдельных опухолевых клеток, предшествующие активации каспазы-3, что позволяет предположить переключение метаболизма глюкозы с гликолиза на пентозофосфатный путь (основной путь образования НАДФН).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-25-00129П).

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРНЫХ МОЛЕКУЛ CD11b И F4/80 НА ПОВЕРХНОСТИ МАКРОФАГОВ МЫШИ С ПОМОЩЬЮ НАНОАНТИТЕЛ, СЛИТЫХ С БЕЛКОМ KATUSHKA

Е. С. Земскова, К. А. Кувалдина, Е. Н. Горшкова, В. В. Мохонов, И. В. Астраханцева, Е. А. Василенко

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
eliza96illusion@gmail.com

Получение препаратов, селективно связывающих цитокины, продуцируемые только определенными типами клеток, является перспективным и развивающимся направлением в современной антицитокиновой терапии. Для реализации этого подхода необходимо подобрать оптимальные молекулы-мишени для связывания биспецифических агентов. Визуализация с помощью флуоресцентных антител является одним из наиболее широко применяемых методов для изучения молекул, экспрессируемых на поверхности клеток. Целью данного исследования являлась оценка наличия и сравнение уровня экспрессии молекул F4/80 и CD11b (маркерных для клеток миелоидного ряда) на поверхности макрофагов, используя метод проточной цитометрии с помощью наноантител, слитых с флуоресцентным белком Katushka.

В ходе данного исследования были созданы генетические конструкции белков aF4/80VHH-Kat, aCD11bVHH-Kat содержащие домены, связывающие молекулы F4/80 и CD11b, сшитые с дальне-красным флуоресцентным белком Katushka (TurboFP635) и контрольная конструкция белка aCD11b_{mut}VHH-Kat, где последовательность aCD11bVHH была мутирована. Для экспрессии белков в бактериальной системе был выбран штамм *E. coli* Rosetta 2(DE3)pLysS. Эффективность экспрессии была оценена с помощью Вестерн Блот-анализа образцов клеточного лизата до и после индукции. Очистка белков была проведена в нативных условиях методом металл-хелатной аффинной хроматографии.

В работе использовали культуру макрофагов, выделенных из бедренной кости мыши линии C57BL/6 в возрасте 6–7 недель. Для снижения уровня неспецифических взаимодействий макрофаги инкубировали с Fc-блокирующими антителами (CD16/CD32 Antibody (KT1632), Invitroden) в течение 20 минут при +4°C. Далее клетки осаждали центрифугированием (10 мин, 700 gcf) и инкубировали с полученными флуоресцентными наноантителами в концентрации 20 мкг/мл в течение 30 мин, двукратно отмывали 2%-ным раствором БСА в фосфатно-солевом буфере (ФСР, pH 7,4) и анализировали уровень флуоресцентного сигнала методом проточной цитометрии с помощью цитофлуориметра Cytotflex S (Beckman Coulter, USA). Возбуждение флуоресценции исследуемых белков осуществляли с помощью желто-зеленого лазера (585 нм), детекцию сигнала – с использованием фильтра 660/20.

Уровень флуоресцентного сигнала от клеток, инкубированных с aCD11b_{mut}VHH-Kat, не отличался от уровня автофлуоресценции клеток (157,7±6,9 и 146±3,9 соответственно). Уровень флуоресцентного сигнала от клеток, инкубированных с белками aF4/80VHH-Kat и aCD11bVHH-Kat был статистически значимо выше контрольного (2582,9±197,9 и 3173,3±168,8 соответственно, $p < 0,05$). Более того, уровень флуоресценции aCD11bVHH-Kat был достоверно выше, чем уровень флуоресценции от aF4/80VHH-Kat ($p < 0,05$).

Было показано, что наноантитела aCD11bVHH-Kat и aF4/80VHH-Kat специфично связываются с макрофагами. Однако, уровень флуоресценции aCD11bVHH-Kat был существенно выше. Это позволяет предположить, что использование домена aCD11bVHH в конструировании полиспецифических антител может обеспечить более эффективное связывание с макрофагами по сравнению с доменом aF4/80VHH.

ОСОБЕННОСТИ ВЕРТИКАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЗООПЛАНКТОНА ОЗЕР ВЕЛИКОЕ И СВЯТО (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ) В ИЮЛЕ 2017 ГОДА

Т. В. Золотарева, Д. Е. Гаерилко

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
tanyakuklina.nn@yandex.ru

Известно, что планктонные организмы распределяются в толще воды неравномерно. Вертикальная неоднородность планктона – один из ведущих факторов, определяющих функционирование и устойчивость водных экосистем. Наиболее интересными водными объектами для изучения вертикального распределения планктонных организмов являются озера, характеризующиеся стратифицированным распределением абиотических факторов. Гидробиологические исследования, посвященные вертикальному распределению зоопланктона чрезвычайно малочисленны. Целью работы являлось изучение вертикального распределения и выявление показателей количественного развития зоопланктона озер Великое и Свято Пустынской озерно-речной системы в 2017 г. Исследованные озера расположены на территории заказника «Пустынский» Арзамасского района Нижегородской области. Общая площадь оз. Великое – 91,25 га, средняя глубина – 3,5 м. Вода озера мягкая, минерализация слабая. Площадь оз. Свято – 26,55 га, средняя глубина 5,7 м. Вода озера очень мягкая, минерализация малая (в 1,9 раз меньше, чем в оз. Великом). Для определения оптимальных глубин отбора проб проводились предварительные измерения физико-химических характеристик от поверхности до дна водоема через каждый метр. Пробы зоопланктона отбирали батометром (на глубинах: 1, 2, 4, 6, 8, 10 м в оз. Свято; на глубинах: 0,5, 1, 1,5, 3, 4,5 м в оз. Великом), объем воды (20 л) процеживали через сеть Апштейна и фиксировали 4% формалином. Камеральная обработка выполнялась по стандартной методике. Согласно полученным результатам, в оз. Великом было отмечено незначительное изменение физико-химических показателей. С нарастанием глубины зафиксировано небольшое понижение температуры (от +17,2 до +15,4°C), электропроводности (от 88,3 до 85,5 мкС/см), рН (от 7,08 до 6,93). Максимальные показатели количественного развития (численность и биомасса зоопланктона) отмечены на глубине 0,5 м: 60,5 тыс. экз./м³ и 0,3 г/м³ соответственно. С увеличением глубины отбора наблюдалось плавное снижение численности (от 60,5 тыс. экз./м³ до 29,6 тыс. экз./м³) и биомассы (от 0,3 г/м³ до 0,16 г/м³) зоопланктона. На глубинах 0,5–1 м доминирующими видами являлись науплиальные и копеподитные стадии Cyclopoidea, а также ветвистоусый рачок *Bosmina longirostris*. На глубинах 3–4,5 м наряду с ювенильными стадиями веслоногих ракообразных в число доминантов входили коловратки *Trichocerca cylindrica*, *Filinia longiseta*. В оз. Свято, в отличие от оз. Великого, была отмечена температурная стратификация водной толщи. Согласно полученным результатам, мощность эпилимниона составила около 1 м, металимниона – 5 м, гипolimниона – 6 м. Температура воды эпилимниона составляла +17°C, металимниона – +11°C, гипolimниона – +4°C. При этом максимальные показатели количественного развития зоопланктона наблюдались в металимнионе: численность составила 182,5 тыс. экз./м³, биомасса – 1,9 г/м³. Минимальные – в гипolimнионе: 6,6 тыс. экз./м³, 0,03 г/м³ соответственно. Комплекс доминирующих видов на разных глубинах различался. Доминантами в эпи- и металимнионе являлись коловратки *Kellicottia longispina*, *Asplanchna priodonta* и вид-вселенец *Kellicottia bostoniensis*. В гипolimнионе численность чужеродного вида была крайне низкой, и в число доминантов он не входил.

Таким образом, в результате проведенных исследований было показано изменение вертикального распределения физико-химических факторов и показателей количественного развития зоопланктона озер Великое и Свято по глубинам. В оз. Свято зафиксирована температурная стратификация и отмечены связанные с ней изменения количественного развития зоопланктона. В оз. Великом температурная стратификация отсутствовала, водные массы были существенно более однородными, количественное развитие зоопланктона на различных глубинах отличалось незначительно.

ПОЛИМЕРНЫЕ ПОКРЫТИЯ ЗАКРЫТЫХ ГРУНТОВ СПОСОБНЫЕ К КОНВЕРСИИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В СИНЕЕ И ЗЕЛЕНОВОГО В КРАСНОЕ

В. Е. Иванов¹, И. И. Раков², Е. В. Бармина², С. В. Гудков^{2, 3}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино
Московской области, ул. Институтская, 3

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38

³Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Целью данного исследования является создание научных основ и технологии изготовления полимерных фотоконверсионных покрытий для теплиц (полимерных пленок) позволяющих повысить производительность закрытых грунтов в зоне рискованного земледелия. Суть фотоконверсионных технологий в теплицах сводится к фотоконверсии УФ-излучения в сине-фиолетовый, а зеленого и желтого света в красный свет необходимый для растений. Другими словами, при прохождении солнечного света через фотоконверсионные полимерные покрытия должна существенно увеличиваться интенсивность сине-фиолетовой и красной области спектра, а интенсивность УФ, зеленой и желтой областей спектра должна уменьшаться. В качестве флюорофора будут созданы золотые наночастицы легированные рядом ионов. В докладе будут рассматриваться вопросы, касающиеся получения наночастиц с контролируемыми размерами, формой, морфологией и главное необходимыми оптическими свойствами. Исследование физико-химических процессов, происходящих при получении наночастиц с помощью лазерной абляции и лазерного фрагментирования. Включение наночастиц в полимерные матрицы в виде цепочек (около 2-3 в ряд («бусы»)) для сверхаддитивного усиления поля оптической волны. Будут представлены оптические свойства полимерных матриц с включенными наночастицами.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – докторов наук (МД-3811.2018.11).

ОЦЕНКА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО БИСПЕЦИФИЧЕСКОГО НАНОАНТИТЕЛА BV-1

А. А. Иванюк, Е. В. Большакова, Е. А. Василенко, В. В. Мохонов, И. В. Астраханцева,
Е. Н. Горшкова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
n.ivanyuk.0510@mail.ru

В настоящее время антицитокиновая терапия широко применяется для лечения различных аутоиммунных расстройств. Тем не менее, системное ингибирование цитокинов может приводить к проявлению нежелательных побочных эффектов. Для целенаправленной блокировки TNF, продуцируемого макрофагами, в лаборатории экспериментальной иммунологии ННГУ им. Н.И. Лобачевского под руководством акад. С.А. Недоспасова было получено биспецифическое антитело BV-1, состоящее из двух VHH доменов и способное одновременно связывать два разных антигена – TNF и поверхностный маркер макрофагов F4/80. Это антитело может быть использовано для удержания и блокирования биологической активности TNF на поверхности макрофагов. Данная особенность этих антител может послужить преимуществом при терапии аутоиммунных заболеваний, позволяя снизить риск возникновения нежелательных побочных эффектов, вызываемых системной блокировкой TNF. Одним из важных свойств белка, используемого для диагностики или терапии, является его стабильность. Сохранение активности белка при хранении в различных условиях, например, при различных температурах, может сыграть решающую роль для получения желаемого результата в лечении или диагностике. Нарушения стабильности белков, такие как агрегация, фрагментация, окисление и восстановление, привели к практике хранения этих продуктов при низких температурах (от -80°C до -20°C). Однако соблюдение таких условий хранения может быть проблемой, особенно в развивающихся странах. Целью данной работы было оценить стабильность биспецифических антител BV-1 при разных температурных режимах хранения, а также при воздействии повышенных температур.

Белок был экспрессирован в клетках штамма Rosetta 2(DE3)pLysS *E. coli*, трансформированных экспрессионной плазмидой. Очистка белка была проведена методом металл-хелатной аффинной хроматографии. После очистки активность полученного белка была оценена с помощью МТТ теста на клеточной культуре WENI164. Кроме того, аликвоты белка поместили на хранение при различных температурах: -70°C , -20°C , $+4^{\circ}\text{C}$. Далее биологическая активность белка оценивалась каждые 7 дней в течение первого месяца хранения, затем каждые три месяца в течение полугода с помощью цитотоксического теста *in vitro* на клетках линии WENI-164. Также была оценена активность белка после инкубации при повышенных температурах: $+37^{\circ}\text{C}$, $+60^{\circ}\text{C}$, $+70^{\circ}\text{C}$, $+80^{\circ}\text{C}$, $+90^{\circ}\text{C}$ в течение 2 часов.

Результаты эксперимента показали, что температура длительного хранения не влияла на активность белка в цитотоксическом тесте: за 6 месяцев хранения белка при различных температурах активность белка не изменилась. Также было показано, что кратковременная инкубация (2 ч) BV-1 при $+37^{\circ}\text{C}$ и $+60^{\circ}\text{C}$ не влияет на его активность *in vitro*. Однако увеличение температуры до $+70^{\circ}\text{C}$ в ходе 2 ч инкубации снижало активность белка на 95%, а воздействие таких температур, как $+80^{\circ}\text{C}$ и $+90^{\circ}\text{C}$, приводило к полной утрате способности BV-1 блокировать TNF *in vitro*.

Таким образом, нами было показано, что BV-1 может храниться при $+4^{\circ}\text{C}$, и кратковременное его хранение при температуре не выше 60°C не оказывает влияния на его активность.

Работа выполнена в рамках государственного задания (шифры проекта 20.6156.2017/9.10, 20.6159.2017/9.10, 20.6445.2017/9.10).

СОДЕРЖАНИЕ ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ БОЛЬНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА НА ФОНЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКОГО СИНДРОМА

А. В. Изосимова, А. И. Самойлова, Е. В. Пульнова, Т. А. Веселова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
annizosimova@mail.ru

Известно, что повреждающее действие злокачественной опухоли не ограничивается изменениями в месте ее локализации, вызывая общие сдвиги в организме. Развитие новообразования связано с вовлечением в патологический процесс эритрона. При злокачественном росте наблюдаются количественные изменения эритроцитов, а также ряд структурно-функциональных перестроек клеток, в частности, нарушение метаболизма глюкозы и, как следствие, интенсивности гликирования белков. Изменение скорости гликирования гемоглобина оказывает существенное влияние на физические параметры эритроцитов, которые, в свою очередь, определяют тяжесть патологии и могут иметь определенное диагностическое значение. В связи с этим, цель работы – исследование степени гликирования гемоглобина в эритроцитах больных со злокачественными опухолями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) с проявлениями гематологического паранеопластического синдрома.

Материалом исследования служила кровь больных со злокачественными новообразованиями ЖКТ II и III стадии до хирургического удаления опухоли (17 образцов). Контролем служила кровь практически здоровых доноров (15 образцов) и пациентов с заболеваниями желудочно-кишечного тракта не онкологического генеза (15 образцов), стабилизированная ЭДТА-КЕ (ПОМЦ). Гематологические показатели крови пациентов оценивали на гематологическом анализаторе «Abacus Junior 30», определение содержания гликированного гемоглобина и глюкозы в крови проводили с помощью наборов реагентов «Гликогемотест» и «ДДС» соответственно.

Практически у всех пациентов со злокачественными новообразованиями ЖКТ и у 50% больных с заболеваниями желудка и кишечника не онкологического генеза была диагностирована гипохромная, микроцитарная анемия с анизоцитозом. Анемия как одно из эритроцитарных проявлений гематологического паранеопластического синдрома у больных с онкопатологией ЖКТ в большинстве случаев сопровождалась накоплением гликированного гемоглобина в эритроцитах на фоне гипергликемии, обусловленной гипогликемическим давлением опухоли и избыточной продукцией контринсулярных гормонов. Содержание гликированного гемоглобина в эритроцитах пациентов с заболеваниями ЖКТ не онкологического генеза не отличалось от такового у практически здоровых доноров и нормы.

Таким образом, высокий уровень гликированного гемоглобина в крови пациентов с онкопатологиями ЖКТ во многом определяет структурно-функциональные свойства эритроцитов и может являться дополнительным диагностическим критерием тяжести течения онкологических заболеваний.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДРОЖЖЕЙ, СЕКРЕТИРУЮЩИХ БЕТА-ПРОПЕЛЛЕРНУЮ БАКТЕРИАЛЬНУЮ ФИТАЗУ

Д. Л. Иткина, А. Д. Сулейманова, М. Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
laia9301@mail.ru

Фосфор – один из существенных микроэлементов, который необходим для осуществления множества важных обменных процессов в организме. Известно, что некоторая часть фосфора, содержащегося в кормовом сырье, нерастворима и неусвояема, поскольку связана фитиновой кислотой. Организм животных не способен синтезировать ферменты, способные расщеплять фитаты. Одним из качественных направлений решения проблемы дефицита фосфора в питании животных является возможное внесение в корма экзогенного фермента микроорганизмов – фитазы, которая осуществляет гидролиз фитата и высвобождает фосфор, который затем легко усваивается в пищеварительном тракте. Высоко-экспрессионная система на основе дрожжей *Pichia pastoris* широко используется в биоинженерии для получения рекомбинантных белков в исследовательских и прикладных целях. Цель работы – получение дрожжевых систем экспрессии на основе гена бациллярной фитазы.

Для экспрессии бактериальных ферментов в дрожжевых клетках *P. pastoris* использовали последовательности генов бета-пропеллерной фитазы *Bacillus ginsengihumi* M2.11 – phyC, к структурным областям которых добавляли С-терминальный His-таг, позволяющий проводить очистку фермента из культуральной жидкости. Для корректной экспрессии бактериальных ферментов в дрожжах проводили оптимизацию кодонов нуклеотидных последовательностей генов, после чего гены ферментов были синтезированы и по отдельности клонированы в вектор pUC57 компанией Genscript (США). В работе использовали интегративные дрожжевые вектора pPINK-НС (высококопийный вектор) и pPINK-LC (низкокопийный вектор), а также нуклеотидную последовательность высокоэффективного сигнального пептида α amilase.

Проводили трехступенчатое лигирование вектора (pPINK-НС/ pPINK-LC), последовательности сигнального пептида и гена фитазы (phyC), с последующей трансформацией лигазной смеси в клетки *Escherichia coli* DH5 α . Отбор трансформантов проводили на среде с ампициллином (100 мкг/мл). Наличие генов идентифицировали с помощью ПЦР-анализа колоний трансформантов. Результаты секвенирования подтвердили корректность встраивания сигнального пептида и целевого гена в дрожжевые вектора.

Затем были получены рекомбинантные штаммы *P. pastoris* под контролем индуцибельного дрожжевого промотора гена АOX1, содержащим области, обеспечивающие активацию транскрипции в присутствии метанола в культуральной среде, а также область инициации транскрипции.

Дальнейшее выделение и очистка фермента, изучение экспрессии и свойств данного фермента станет одним из этапов в решении фундаментальных проблем, связанных с регулированием фосфорного обмена и может стать важным этапом развития биотехнологического производства фитаз.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) Федерального Университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и поддержана грантом РНФ № 16-16-04062.

ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ ДРОПЕРИДОЛОМ, В ТЕСТЕ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»

Д. В. Казанцева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dinacazantsewa@yandex.ru

Дегидробензперидол, или дроперидол, в наибольшей степени отвечает требованиям к идеальному нейролептику для целей анестезии по сравнению с большим числом других изученных веществ из этой группы. Дроперидол блокирует пути, соединяющие специфическую систему проведения раздражения и ретикулярную формацию, существенно не влияя, собственно, на функцию ретикулярной системы. Предполагают, что восходящее проведение раздражения к ретикулярной формации подавляется, в то время как контакт ретикулярной системы сохраняется. Биохимический механизм действия дроперидола связан, по-видимому, главным образом с его влиянием на моноаминовый обмен. С позиции этого механизма действия дроперидола можно объяснить такие эффекты его действия, как нейровегетативное торможение или экстрапирамидальную симптоматику.

Большинство авторов сходятся во мнении на том, что как центральный, так и периферический эффект нейролептиков во многом определяется влиянием этих препаратов на рецепторы. Ряд авторов прямо указывает, что действие дроперидола связано с блокирующим влиянием этого препарата на адренорецепторы, сущность которого состоит в понижении проницаемости рецептора для аминов, в результате чего нарушается их связывание с рецептором и таким образом ускоряется инактивирование по пути O-метилирования.

В наших экспериментах введение дроперидола в дозе 25 мг/кг через 24 часа после инъекции локомоторная активность крыс достоверно не отличается от контрольных величин, однако в течение 6 часов показатели локомоции были значительно ниже контроля. Так, если показатель локомоции в контроле через 6 часов после инъекции дроперидола соответствовал $1,0 \pm 0,2$ актов/5 мин., то в то же время при введении физиологического раствора этот показатель был равен $30,0 \pm 3,8$ актов/5 мин. Аналогичная картина наблюдалась при введении композиций дроперидола с гепарином, но через 24 часа в этом случае показатели локомоции соответствовали таковым в контрольной серии экспериментов. При введении протамин сульфата на фоне действия дроперидола показатели локомоции были ниже не только по сравнению с группой животных, которым инъецировали дроперидол, но и с контрольными значениями. Так, если при введении дроперидола показатель локомоции составлял через час после введения $1,3 \pm 0,2$, то инъекция протамин сульфата на фоне действия дроперидола сопровождалась снижением показателя до $0,3 \pm 0,02$ актов/5 мин. Следует особо отметить, что через 24 часа в группе крыс с введением дроперидола локомоторная активность достоверно не отличалась от контроля, то при введении композиции с протамин сульфатом, эта величина равнялась всего $5,2 \pm 0,6$ актов/5 мин.

Показатели исследуемых поведенческих актов при введении дроперидола в дозе 25 мг/кг достоверно снижаются относительно контроля, с тенденцией увеличения через 24 часа. Однако и в этом случае они не достигают контрольных величин. При введении дроперидола в различных сочетаниях с гепарином наблюдается восстановление показателей до контрольных величин, а в некоторых случаях и превышая их. Так, например, количество вертикальных стоек в контроле составляло через 24 часа $5,3 \pm 0,7$ актов/5 мин, при введении дроперидола – $1,4 \pm 0,2$ актов/5 мин., а при совместном введении дроперидола с гепарином в виде смеси эта величина достигала $15,3 \pm 2,1$ актов/5 мин. при введении протамин сульфата на фоне действия дроперидола показатели поведенческих актов снижались до единичных проявлений.

СКОРОСТЬ ДРЕЙФА БАКТЕРИЙ ПРИ НАЛИЧИИ ХИМИЧЕСКОГО РАЗДРАЖИТЕЛЯ В СРЕДЕ В РАМКАХ СТРАТЕГИИ С ДВУМЯ ЧЕРЕДУЮЩИМИСЯ УГЛАМИ ПОВОРОТА

А. И. Калякулина, Е. В. Панкратова, В. Ю. Забурдаев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kalyakulina.alena@gmail.com

Наиболее многочисленными живыми организмами являются бактерии. Разнообразие размеров, форм и способов передвижения позволяют им приспосабливаться к различным условиям окружающей среды. Бактерии в однородной среде зачастую следуют определенным паттернам движения, которые могут влиять на процесс хемотаксиса – способность бактерий двигаться вдоль градиента некоторого химического вещества в среде. Направление, связанное с изучением явления хемотаксиса микроорганизмов, активно развивается в настоящее время.

Экспериментальные наблюдения обнаружили несколько основных типов случайных блужданий, определяющих особенности двигательных реакций бактерий в ответ на химический раздражитель в окружающей среде. Наиболее изученным примером является стратегия движения бактерии *Escherichia coli*. Для нее характерно перемещение, состоящее из чередования плавных движений (длительностью в несколько секунд) и кратковременных поворотов (около десятой доли секунды). При этом среднее значение угла между направлениями до и после поворота составляет примерно 62° . Эффективность хемотаксиса бактерий, использующих подобную стратегию с неизменяющимся в среднем углом поворота, была исследована с помощью подхода Пьера Жилиа де Жена и была обобщена на случай стратегии с двумя чередующимися углами поворота, один из которых соответствует перпендикулярному в среднем отклонению по отношению к текущему направлению движения. Показано, что вторая стратегия является более эффективной, чем стратегия движения бактерии *E. coli*, поскольку она обеспечивает более высокую скорость дрейфа бактерий.

Последние экспериментальные исследования с использованием высокоточного метода наблюдения за траекториями движения бактерий показали, что случайные блуждания *Vibrio alginolyticus* представляются в виде чередования двух различных средних значений углов, один из которых зависит от размера бактерии, а другой в среднем равен 172° . В этом случае вычисление скорости дрейфа становится нетривиальным ввиду необходимости учитывать историю движения бактерии. Следуя идеям де Жена, мы аналитически вычислили скорость дрейфа для данного общего случая. Полученные результаты демонстрируют полное совпадение с частными случаями, рассмотренными ранее.

Непрерывное развитие экспериментальных методов позволяет получать более детальную информацию о поведении бактерий на клеточном уровне, что способствует разработке более точных математических моделей миграционных процессов в подобных сложных системах. В данной работе нами был рассмотрен один из наиболее общих паттернов движения с двумя различными чередующимися углами поворота. Описанная модель принимает во внимание историю движения клетки, позволяет учитывать степень неоднородности популяции бактерий и соотносить различия в поведении клеток в общей популяции с их размером. В рамках данной модели можно рассматривать разные распределения времен прямолинейного движения бактерии или различные функции отклика. Такие аналитические величины как скорость дрейфа, позволяют связывать паттерн движения бактерии с эффективностью процесса хемотаксиса, и могут быть использованы для экспериментального получения неизвестных в настоящее время параметров бактериальной сенсibilизации на основе экспериментов по хемотаксическому дрейфу.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект 16-12-10496).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИИ «УБИХИНОН + МАТОЧНОЕ МОЛОЧКО» НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ ОРГАНОВ КРЫС С КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ

Л. Н. Каницерова¹, Е. В. Крылова¹, А. Г. Соловьева²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
000543210@mail.ru

²Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава России,
603155, Нижний Новгород, Верхневолжская набережная, 18/1

Известно, что термические травмы являются тяжелой формой патологии и проявляются не только локальными сосудисто-тканевыми изменениями, но и формированием синдрома системного воспалительного ответа, сопровождающегося усилением образования активных форм кислорода и активации перекисного окисления липидов (ПОЛ). В связи с безудержной самоподдерживаемой инициацией ПОЛ может происходить не только модификация клеточной стенки, но и ее альтерация, приводящая к системному поражению органов и тканей. В качестве мер патогенетической терапии термической травмы могут быть использованы антиоксиданты — средства, направленные на подавление свободнорадикального окисления мембранных липидов. Такими веществами могут быть продукты пчеловодства или убихиноны. В связи с этим актуальна проблема изучения влияния этих веществ на ПОЛ при комбинированной термической травме. Цель работы – изучить влияние комбинации «убихинон + маточное молочко» на про- и антиоксидантный статус органов крыс с комбинированной термической травмой.

Эксперименты были проведены на белых крысах-самцах линии Wistar массой 180–220 г. Из 30 крыс сформировали 3 группы животных: 1) интактная группа – здоровые животные, (n=10); 2) контрольная группа – животные с комбинированной термической травмой (n=10); 3) опытная группа – животные с комбинированной термической травмой, получавшие убихинон и маточное молочко (n=10). Животным под наркозом (золетил + ксила) наносили ожог III Б – IV степени в сочетании с термоингаляционной травмой. В контрольной группе осуществляли стандартное лечение. Животным опытной группы, аналогично контрольной, проводилось инфузионное (физиологический раствор) и местное лечение, в дополнение к которому ежедневно скармливались через зонд исследуемые вещества в течение 10 дней. Маточное молочко (100 мг/кг) в виде свежеприготовленного водного раствора, убихинон в весовой дозе 15 мг/кг, смешанный с оливковым маслом. На 11-й день животных выводили из эксперимента путем декапитации с предварительной перерезкой сонной артерии под наркозом (золетил + ксилазин). Для исследования использовали 10% -ный гомогенат тканей органа (печени, почки, сердца или легкого). Интенсивность ПОЛ изучали методом индуцированной биофлуоресценции (Кузьмина и др., 1983). Содержание МДА оценивали по спектрофотометрическому методу (Mihara, 1980).

Показано, что комбинированная термическая травма вызывает повышение светосуммы хемилюминесценции, а также увеличение концентрации МДА во всех исследуемых органах. Кроме того, в каждом органе наблюдается понижение общей антиоксидантной активности. Установлено, что применение комбинации «убихинон+маточное молочко» привело к снижению интенсивности ПОЛ в печени на 42%, в сердце на 41%, в почках на 38%, в легких на 23,5% по сравнению с контролем. При этом уменьшилась концентрация МДА в печени на 43%, в почках на 23%, в легких на 27%, в сердце на 45%. Выявлено повышение общего антиоксидантного статуса в печени на 18%, в почках на 30%, в легких на 26%, в сердце на 36% по сравнению с животными с комбинированной термической травмой.

Таким образом, использование комбинации «убихинон + маточное молочко» в комплексной терапии комбинированной термической травмы способствует снижению степени окислительного стресса в организме.

БИОГЕОГРАФИЧЕСКИЙ СОСТАВ ФАУНЫ ГУБОК (PORIFERA) ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ БАРЕНЦЕВА МОРЯ

*Е. С. Каткова*¹, *Г. С. Морозов*¹, *О. С. Любина*², *Р. М. Сабиров*¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *katkova.k@yandex.ru*

²Мурманский морской биологический институт Кольского научного центра РАН, 183010, Мурманск, ул. Владимирская, 17

По биогеографическому районированию Баренцево море занимает пограничное положение между Атлантической Бореальной и Арктической биогеографическими областями.

Был изучен таксономический и биогеографический состав губок западной части Баренцева моря. Материалом для исследований послужили губки, собранные при экосистемной съемке ПИНРО/IMR в этой части моря на НИС «Johan Hjort» с 30 августа по 05 октября 2011 г. Всего было отмечено 23 вида губок из класса Demospongia, 7 отрядов (Poecilosclerida, Suberitida, Tethyida, Tetractinellida, Axinellida, Polymastiida, Haplosclerida), 16 семейств, 19 родов. Их биогеографический состав представлен следующими формами.

Атлантические высокобореально-арктические, самые многочисленные, семь видов: *Thenea valdiviae*, *Polymastia grimaldii*, *Polymastia thielei*, *Craniella polyura*, *Iophon dubium*, *Lycopodina cupressiformis*, *Artemisina arcigera*. В Арктике такие виды распространены от литорали до абиссальных глубин. В приатлантической Арктике (Норвежско-Гренландский бассейн) условной границей их ареала служит Гренландско-Исландско-Фарерский порог, являющийся также барьером на пути распространения арктических вод далее на юг.

Атлантические субтропическо-бореальные формы, два вида – *Suberites carnosus* и *Phakellia ventilabrum*. Обычны в Средиземном море, где их распространение ограничено мелководными участками шельфа (глубины 100–200 м). В Арктике они не отмечаются дальше северной оконечности Шпицбергена. На юго-западе Баренцева моря эти виды были обнаружены нами на глубинах 300–400 м – в районе залегания ядра Атлантической водной массы.

Эктонные формы губок: *Melonanchora elliptica* и *Tethya norvegica*, их ареалы лежат на границе Бореальной и Арктической областей.

К эврибионтным формам среди изученных видов относятся *Mycale lingua*, *Crella pyrula*, *Plocamta ambigua*. Проникнув из Средиземноморского района Атлантики в Арктику, они успешно колонизировали последнюю. Восточной границей в их распространении служит Новосибирское мелководье.

К широко распространённым формам могут быть отнесены *Semisuberites cribrosa*, *Halichondria (Eumastia) sitiens*, *Pseudosuberites montiniger*, *Suberites montalbidu*, *Haliclona (Flagellia) porosa*, *Haliclona rosea*. Они характерны для умеренных вод Атлантики, Пацифики, а также субарктической зоны.

В районе к востоку от Шпицбергена был обнаружен единственный тихоокеанский высокобореально-арктический вид *Haliclona gracilis*.

Новым видом для района исследования явилась *Axinella hispida*, обнаруженная на юго-западном склоне Медвежинского желоба на глубине 385 м. Ранее этот вид был описан В.М. Колтуном (1959) по двум экземплярам из Берингова моря. Нами *A. hispida* обнаружена также на западном склоне Шпицбергена (неопубл. данные). Очевидно, *A. hispida*, как и *Cladocroce ventilabrum*, можно отнести к амфибореальным формам.

В целом, фауна губок шельфа и верхних отделов батиаля западной части Баренцева моря, является относительно молодой и сформировалась, очевидно, преимущественно под влиянием североатлантической спонгиофауны, на долю которой приходится около 60% всех отмеченных видов в исследованном районе.

СИСТЕМНЫЕ И ОРГАНОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ (БА)

Т. И. Колегова¹, К. Н. Контрощикова^{1, 2}, Т. И. Елисеева^{2, 3}, Д. А. Щукина^{2, 3}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tavier@yandex.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Детская городская клиническая больница № 1 Приокского района г. Нижнего Новгорода, 603081, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 76

Патогенетической основой БА является хроническое воспаление, ассоциированное с окислительным стрессом (ОС), однако роль ОС в патогенезе БА остается предметом дискуссий. Цель работы – сопоставить параметры системного и органоспецифического ОС у детей с БА.

Обследовано 20 детей с БА, средний возраст $12 \pm 3,4$ лет, мальчиков 14; оценен контроль БА по шкале Asthma Control Questionnaire (АСQ-5) исследованы параметры ОС в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ), собранного с использованием R-tube (Respiratory Research Inc., США). Исследование ОС включало: (1) индуцированную хемилюминесценцию (ХЛ) биосубстратов (БХЛ-07) с оценкой параметров: I_{\max} (мВ) – максимальная интенсивность свечения, отражает способность субстрата к свободнорадикальному окислению (СРО); S (мВ) – светосумма ХЛ за 30 секунд – характеризует обрыв цепи СРО, обратно пропорциональна антиоксидантной активности пробы; $tg(-2\alpha)$ – характеризует скорость восстановления антиоксидантной защиты (оценка по модулю значений); Z – отношение индексов S/I_{\max} , характеризует уровень антиоксидантной защиты. (2) Определение содержания в субстратах продуктов перекисного окисления липидов (относительные единицы): диеновых и триеновых конъюгат (ДК и ТК), оснований Шиффа (ОШ) по методу Волчегорского И. А. (1989). Результаты представлены в виде $Me [Q1; Q2]$, где Me – медиана, $[Q1; Q2]$ – 95% доверительный интервал. Сравнение выборок проведено с использованием парного $t_{\text{парн}}$ -критерия Стьюдента. Корреляционные взаимоотношения между параметрами ОС в сыворотке и в КВВ определены методом простой регрессии, данные представлены в виде коэффициента корреляции R и уровня значимости p .

Показатели ОС в сыворотке крови и в КВВ составили соответственно: S , мВ·сек: 3542 [3266; 5219]; 1291 [1149; 1555], $t_{\text{парн}}=6,37$, $p=0,000003$; I_{\max} , мВ: 927,00 [790; 1145]; 609,00 [503; 653], $t_{\text{парн}}=6,18$, $p=0,000005$; Z : 4,14 [3,79; 4,42]; 2,27 [1,96; 2,55], $t_{\text{парн}}=3,41$, $p=0,003$; $tg(-2\alpha)$: 426 [583; 325]; 333 [411; 279], $t_{\text{парн}}=-3,01$, $p=0,007$; ДК, отн. ед.: 0,32 [0,18; 0,5]; 0,27 [0,18; 0,5], $t_{\text{парн}}=0,65$, $p=0,52$; ТК, отн. ед. 0,66 [0,35; 0,92]; 0,32 [0,35; 0,92], $t_{\text{парн}}=2,24$, $p=0,037$; ОШ, отн. ед.: 451,11 [154,73; 637,07]; 114,76 [99,81; 168,16], $t_{\text{парн}}=2,98$, $p=0,007$; ОШ/(ДК+ТК) 337,65 [178,18; 644,77]; 189,05 [174,24; 305,1], $t_{\text{парн}}=2,23$, $p=0,037$. Корреляционные взаимоотношения (R ; p) между параметрами ОС в сыворотке и КВВ составили: S , мВ·сек (0,23; 0,33); I_{\max} , мВ (0,20; 0,39); Z (0,46; 0,04); $tg(-2\alpha)$ (0,24; 0,31); ДК (-0,33; 0,16); ТК (-0,28; 0,24); ОШ (0,65; 0,003); ОШ/(ДК+ТК) (0,37; 0,12).

Между параметрами, отражающими системные и органоспецифические процессы ОС, имеются, как правило, статистически значимые различия; корреляционные взаимоотношения между ними не всегда очевидны. Необходимы дальнейшие исследования для детализации механизмов системного и органоспецифического ОС у детей с БА.

ОРНИТОФАУНА ЛЕСОВ ЧУВАШСКОГО ЗАВОЛЖЬЯ В ПОСТПИРОГЕННЫХ УСЛОВИЯХ

С. Е. Коленов

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
sergey-k-0@yandex.ru

Лесные экосистемы по всему миру подвергаются мощному воздействию человека, что приводит к сокращению численности зависящих от них биологических видов. Это в полной мере касается лесных видов птиц. Малейшие изменения в лесных экосистемах вызывают реакцию на уровне орнитофауны, что делает птиц удобным индикатором состояния лесов.

На территории Чувашской Республики сохраняется высокая лесистость (32% территории). Один из крупнейших лесных массивов представлен хвойными лесами Заволжья, расположенными на левом берегу реки Волга. В древостоях здесь доминирует сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*), а в подлеске – можжевельник обыкновенный (*Juniperus communis*). Около трети лесного массива выгорело в результате лесных пожаров 2010 года.

Орнитофауна территории изучена слабо, и целью данного исследования стало определение видового состава и численности птиц на территории Чувашского Заволжья и выявление факторов, влияющих на их распространение. Исследования проводились в 2015–2017 гг. на трех участках зимой и на четырех – летом. Учеты велись по методу Ю. С. Равкина на 4 постоянных маршрутах (зимой – на трех), отличающихся по степени антропогенного воздействия и особенностям древостоя. В зимний период исследования проводились один раз в месяц в ноябре-марте, а в гнездовой период – трижды в мае-июне.

В зимний период на территории Чувашского Заволжья нами отмечено 46 видов птиц. Доминировали представители семейств Paridae и Fringillidae – пухляк (*Parus montanus*), хохлатая синица (*Parus cristatus*) и чиж (*Spinus spinus*). Помимо этого, к доминирующим относились желтоголовый королек (*Regulus regulus*) и большой пестрый дятел (*Dendrocopos major*). Среднее число видов было наибольшим на участке разреженного леса (20) и наименьшим – на отдаленном участке, редко посещаемом людьми (16). Индекс Шеннона демонстрировал сходные различия (2,31 и 2,04 соответственно).

В летний период (май-июнь 2016 г.) на исследованных участках мы зарегистрировали присутствие 72 видов птиц. Среднее число видов было наименьшим на небольшом фрагменте лесного массива, сохранившегося после лесных пожаров 2010 г. (24), и наибольшим – на участке хвойного леса с элементами пойменного на побережье Волги (42). Доминантным видом на всех маршрутах являлся зяблик (*Fringilla coelebs*) – его доля в общем населении доходила до 40%, а средняя плотность – 260 особей/км². На отдельных участках к доминирующим также относились лесной конек (*Anthus trivialis*) и серая мухоловка (*Muscicapa striata*). Среднее значение индекса Шеннона было максимальным на участке разреженного леса со значительным антропогенным воздействием (2,81), а наименьшим – на лесном фрагменте, окруженном горями (2,31). Для ряда видов нами выявлены различия в плотности между различными участками. Так, обыкновенная овсянка (*Emberiza citrinella*), чечевица (*Carpodacus erythrinus*) и белая трясогузка (*Motacilla alba*) были многочисленнее в разреженном лесу. Отдельные виды птиц были малочисленны или отсутствовали на фрагментированном лесном участке, например, мухоловка-пеструшка (*Ficedula hypoleuca*). В то же время, иволга (*Oriolus oriolus*), пеночка-теньковка (*Phylloscopus collybita*), пеночка-весничка (*Phylloscopus trochilus*), певчий дрозд (*Turdus philomelos*) не демонстрировали явных предпочтений в выборе местообитания.

В целом, на территории лесного Заволжья Чувашской Республики нами выявлено значительное видовое разнообразие птиц. Антропогенное, в первую очередь рекреационное воздействие, на территорию, значительное на некоторых участках, пока не вылилось в серьезное снижение численности видов. В то же время, фрагментация лесов в результате пожаров оказывает однозначно негативное влияние как на видовое разнообразие, так и на численность отдельных видов.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ НЕКОТОРЫХ ПРАВОБЕРЕЖНЫХ ВОЛЖСКИХ ПРИТОКОВ ПО ФИТОПЛАНКТОНУ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ПОДХОДОВ

К. Е. Коломина, Е. М. Шарagina, О. О. Бондарев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

kolomina.ksu@gmail.com

В соответствии с концепцией Водной Рамочной Директивы (WFD) в странах Европейского Союза для оценки состояния вод используется экосистемный подход, первостепенным критерием которого является анализ состава и структурных показателей фитопланктона (функциональные группы FGs и связанный с ними индекс сообщества Q). Несмотря на широкое использование этого подхода при оценке качества вод за рубежом попытки его применения в нашей стране единичны. Цель работы – оценка качества воды наиболее загрязненных правобережных волжских притоков рек Сундовик и Кудьма с использованием разных подходов. Отбор проб фитопланктона на Сундовике проводился в течение трех лет (2014–2016 гг.), на Кудьме пробы отбирались в среднем течении реки в 2010 и 2016 гг. Результаты обработки проб среднего и устьевое участка Кудьмы (2010 г.) и устья Сундовика (2014 г.) были предоставлены специалистами.

Согласно существующей функциональной классификации, в реках Сундовик и Кудьма было выделено 39 функциональных групп (кодонов) фитопланктона, в т.ч. 25 – общих для двух рек. Среди ведущих отмечена группа T_B, представленная случайно планктонными видами, попадающими в толщу воды из бентосных группировок (*Gyrosigma acuminatum*, *Amphora ovalis*, виды *Cymbella* и *Navicula*), а также группа D, включающая индикаторов эвтрофикации вод (*Stephanodiscus hantzschii*, *Ulnaria* sp., *Nitzshia* sp.). В сезонном аспекте в Кудьме наиболее разнообразно FG были представлены в летний, в Сундовике – в весенний сезон. В устьевом участке Сундовика более заметно влияние зарегулирования стока. Весной отмечался лимнофильный фитопланктон (динофлагелляты из группы L₀ и золотистые из X₃); летом и осенью – эвтрофный диатомовый планктон (группы B, C, D) при сопутствии криптонад из групп X₃ и Y.

Качество воды изученных речных систем по биомассе фитопланктона изменялось от II класса «вполне чистая» до IV «сильно загрязненная», в среднем соответствуя III классу – «удовлетворительно чистая». Средневегетационные значения индексов сапробности варьировали в пределах одного класса, соответствуя III классу качества «умеренно загрязненные воды». По индексам Q и EQR качество воды изменялось в более широких пределах: от «низкого» до «высокого», средневегетационные их значения свидетельствовали о «хорошем» качестве вод во все годы исследования.

В результате использования разных биоиндикационных показателей выявлено, что наиболее чувствительными для оценки качества воды являются индекс сообществ Q и показатель экологического состояния EQR. Тем не менее, проанализированные выше показатели (биомасса фитопланктона, индексы сапробности и сообществ) слабо соответствовали друг другу и данным гидрохимического анализа, а качество воды по индексу Q оказалось несколько завышенным. Это требует дальнейшего накопления материала с целью анализа его применимости к различным категориям водотоков, а также адаптации к условиям водосборной территории и региона в целом.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ МЕЖНЕЙРОНАЛЬНЫХ СВЯЗЕЙ В МИКРОФЛЮИДНЫХ КАНАЛАХ

В. Н. Колпаков¹, О. О. Антипова¹, А. А. Гладков^{1, 2}, Я. И. Пигарева¹, А. С. Пимашкин¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kolpakov-v@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603081, Нижний Новгород,
просп. Гагарина, 70

Мозг является одной из самых сложных биологических объектов в природе. Нейроны в мозге связаны между собой с помощью дендритов и аксонов, которые в свою очередь соединяются между собой синапсами. Синапсы являются динамичной структурой и обладают свойством пластичности - способности изменять эффективность передачи нервных импульсов. Синаптическая пластичность играет огромную роль в функциях нервной системы, в частности в процессах развития, обучения и памяти. Целью работы стало повышение эффективности формирования однонаправленной архитектуры связей между нейрональными культурами, растущими в микрофлюидном чипе на микроэлектродной матрице.

Ранее был разработан микрофлюидный чип, состоящий из двух камер для культивирования нейронов гиппокампа (E18), соединенных между собой восемью микроканалами определенной асимметричной формы. Микроканалы обеспечивали рост аксонов в одном заданном направлении, но сформированных связей было недостаточно для появления передачи пачек биоэлектрической активности между сетями. Для увеличения количества синаптических связей было удвоено количество микроканалов в микрофлюидном чипе – с 8 до 16.

В ходе работы была произведена регистрация и сравнение спонтанной биоэлектрической активности нейрональных культур в микрофлюидных чипах с 8 и 16 микроканалами. Увеличение числа микроканалов привело к увеличению количества синаптических связей, что привело к значительному увеличению эффективности однонаправленной передачи пачек импульсов между культурами.

Описанные клеточные методы позволяют изучить роль морфологии и архитектуры сети клеток в формировании функции и процессах обработки информации. Развитие подобных методов нейроинженерии для выращивания сложных нейронных сетей с заданными функциональными свойствами («Мозг-на-чипе») будет лежать в основе новых методов персонализированной медицины, нейротрансплантации и реабилитации.

СОЗДАНИЕ ПРОДУЦЕНТА *ESCHERICHIA COLI* ЭКСПРЕСИРУЮЩЕГО МЫШИНЫЙ ПЛАЦЕНТАРНЫЙ РНКАЗНЫЙ ИНГИБИТОР

Е. А. Колпакова, В. В. Мохонов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kolpanyaluna@gmail.com

К достоинствам белковых ингибиторов рибонуклеаз следует отнести их высокую специфичность, практически полное отсутствие влияния на протекание биохимических реакций и легкость последующего удаления из реакционной смеси. На сегодняшний день одной из наиболее эффективных систем является экспрессионная система *Escherichia coli* под контролем T7-регуляторных элементов. Экспрессия белка, слитого с мальтоза-связывающим белком (MBP), существенно улучшает растворимость белка и его физико-химические свойства. Таким образом, создание генетических конструкций для экспрессии целевого белка, слитого с MBP, в бактериальных системах экспрессии является актуальным для изучения свойств первого. В нашем случае целевым белком является мышинный ингибитор рибонуклеаз (mRI). Целью настоящей работы явилось получение экспрессионного вектора, кодирующего «химерную» последовательность, представляющий собой mRI и растворимый мальтоза-связывающий белок (MBP).

Методом ОТ-ПЦР была получена кДНК, соответствующая гену RI, из культуры макрофагов мыши. Ген MalE, кодирующий MBP был получен методом ПЦР, где в качестве матрицы использовалась геномная ДНК *E. coli* (штамм Top10). Полученные фрагменты были субклонированы в pBluescript II KS (+) и секвенированы. Финальная генетическая конструкция для экспрессии mRI, слитого с MBP получена на базе плазмиды pET22b(+). Между mRI и MBP был включен сайт для TEV-протеазы. Максимальная экспрессия белка наблюдалась в штамме *E. coli* Rosetta 2, кодирующая кодоны, характерные для эукариотической клетки. Очистка белка проведена в не денатурирующих условиях методом металл-хелатной аффинной хроматографии. Уровень продукции растворимого белка составил более 5 мг с 1 литра жидкой культуры клеток.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРФИРАЗИНА В КАЧЕСТВЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ВЯЗКОСТНОГО СЕНСОРА

К. А. Коныгин¹, А. Б. Костюк¹, С. А. Лермонтова^{1,2}, Л. Г. Клашина^{1,2}, А. Б. Воловецкий¹, И. В. Балалаева¹, Н. Ю. Шилягина¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
final2345678909@yandex.ru

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является современным, минимально инвазивным методом лечения злокачественных новообразований, базирующимся на принципе селективного цитотоксического повреждения опухолей. Следует отметить, что на сегодняшний день нерешенной представляется задача раннего контроля эффективности ФДТ. В последнее время в качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ предлагаются соединения, относящиеся к классу молекулярных роторов. Отличительной особенностью данных соединений является выраженная корреляция между их флуоресцентными свойствами и вязкостью среды, что позволяет их использовать в качестве зондов локальной вязкости в клетках живых организмов. Целью нашей работы стало исследование возможности использования тетра(4-бензилоксифенил)тетрацианопорфиразина в качестве фотосенсибилизатора для ФДТ и флуоресцентного зонда внутриклеточной локальной вязкости в эксперименте на клеточных культурах.

Исследование спектральных свойств порфиразина показало, что данное соединение поглощает и флуоресцирует в диапазоне длин волн, соответствующему окну прозрачности биологических тканей, что удовлетворяет одному из требований, которые предъявляются к «идеальным» фотосенсибилизаторам. Нами было показано, что интенсивность флуоресценции порфиразина при увеличении вязкости раствора, а также процентного содержания белка, значительно возрастает, что подтверждает его принадлежность к классу флуоресцентных молекулярных роторов.

Ключевую роль в механизме фотоповреждения клетки играет внутриклеточная локализация фотосенсибилизатора. Нами было показано, что основными местами внутриклеточной локализации порфиразина в клеточной культуре эпидермоидной карциномы человека являются околядерная область клетки и внутриклеточные везикулы. В экспериментах *in vitro* продемонстрирована низкая темновая и высокая световая активность порфиразина в отношении клеток A431. Методом FLIM показана возможность проведения мониторинга фотодинамической реакции по изменению времени жизни возбужденного состояния порфиразина в клетке. Нами было зарегистрировано увеличение времени жизни возбужденного состояния порфиразина в опухолевых клетках, подвергавшихся фотодинамическому воздействию.

Таким образом, тетра(4-бензилоксифенил)тетрацианопорфиразин является потенциальным фотосенсибилизатором для ФДТ онкологических заболеваний и может быть использован в качестве флуоресцентного зонда внутриклеточной локальной вязкости в системе *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Госзадание №6.3099.2017/ПЧ, проект №14.Z50.31.0022).

АНАЛИЗ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ-ХОЗЯЕВ ПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ОКРЕСТНОСТЕЙ РУБСКОГО ОЗЕРА (ИВАНОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

И. О. Корычева, Л. Ю. Минеева

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;
ira-sonce@mail.ru

Травянистые растения являются одними из наиболее распространенных хозяев различных паразитических грибов. Многие виды подверженных заболеваниям растений являются значимыми для человека и широко используются в различных целях. Практическая значимость данной работы состоит в изучении растений-хозяев грибов паразитов для возможности прогнозирования и предотвращения заражения ценных и редких видов травянистых растений.

Целью работы являлось изучение и анализ травянистых растений-хозяев патогенных микромицетов в окрестностях Рубского озера. В ходе исследования были поставлены задачи: выявить видовое разнообразие и провести систематический анализ травянистых растений, выявить наиболее подверженные микопатогенам виды, сравнить уровень поражаемости патогенными грибами травянистых и древесных растений на данной территории, провести анализ органотропной специализации грибов-паразитов.

Исследование проводилось в июне-августе 2015–2017 гг. в окрестностях Рубского озера, расположенного в Тейковском районе Ивановской области. Проводилось обследование растений с признаками поражения грибами в различных биотопах: лес, торфяные и песчаные карьеры, территория СОЛ ИвГУ «Рубское озеро» и территория села Золотниковская пустынь (Тейковский р-н, Ивановская обл.)

Сбор материала производился маршрутным методом, установление видовой принадлежности растений-хозяев проводилось по определителям, для получения иллюстративного материала применялся метод фотосъемки с помощью цифровой фотокамеры Nikon.

В ходе работы всего было собрано и определено 26 видов травянистых растений, относящихся к 14 семействам из 2 классов отдела покрытосеменные.

В результате исследования мы выяснили, что наибольшее число видов грибов-паразитов было обнаружено на представителях семейства Fabaceae – 19,2%. На втором месте семейства Rosaceae и Asteraceae – по 11,54%, менее подвержено заражению семейство Rosaceae – 7,69%. Преобладающими родами оказались *Taraxacum* (хозяин 3 видов грибов-паразитов), *Trifolium* и *Lupinus* (по 2 вида патогенов на растении).

Травянистые и древесные растения практически в равной степени поражаются паразитическими грибами. Доля зараженных видов деревьев, кустарников и кустарничков составила 52,73%, а травянистых растений – 47,27%.

По органотропной специализации преобладают растения с признаками поражения на листьях (71,43%). Выявлены также повреждения листьев и стеблей одновременно (17,86%), цветков (7,14%) и стеблей (3,57%).

ИТАКОНОВАЯ КИСЛОТА КАК ИНГИБИТОР ВТОРОГО КОМПЛЕКСА ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ.

Е. А. Косарева¹, М. В. Дубинин¹, К. Н. Белослудцев^{1, 2}

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
ekaterinakosareva96@mail.ru

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино
Московской обл. ул. Институтская, 3

Итаконовая кислота является продуктом метаболизма грибов *Aspergillus terreus*, которые синтезируют ее в реакциях Цикла Кребса. Предшественником итаконовой кислоты является цис-аконитовая кислота, которая при декарбоксилировании превращается в итаконовую кислоту. В литературе описано влияние итаконовой кислоты на клетки про- и эукариотических организмов. Показано, что итаконовая кислота обладает антибактериальным эффектом (в том числе и в отношении *Mycobacterium*), за счет ингибирования фермента изоцитратлиазы в глиоксилатном цикле бактерий.

У млекопитающих итаконовая кислота играет роль иммуно-поддерживающего метаболита, где она синтезируется в макрофагах как противомикробное соединение. Помимо противомикробного действия итаконовая кислота влияет на внутриклеточный метаболизм млекопитающих. Так было показано, что ее накопление приводит к ингибированию ряда ферментных систем, в том числе сукцинатоксидазной системы митохондрий, но точная мишень итаконовой кислоты в митохондриях не известна.

В настоящей работе планировалось исследовать какой из компонентов сукцинатоксидазной системы митохондрий печени крыс является мишенью итаконовой кислоты: дикарбоксилатный переносчик или сукцинатдегидрогеназа. Показано, что итаконовая кислота не влияет на транспорт сукцината в матрикс митохондрий, опосредованный дикарбоксилатным переносчиком. Измерение активности комплексов дыхательной цепи показало, что итаконовая кислота не влияет на активность I, III, IV комплексов, а также суммарную активность I+III комплексов. Вместе с тем итаконовая кислота примерно на 35% снижала активность II комплекса и более чем на 60% суммарную активность II+III комплексов. Эти данные полностью коррелируют с ингибированием итаконовой кислотой скоростей дыхания митохондрий, окисляющих сукцинат, в состоянии 3 и при разобщении ДНФ.

Механизм действия итаконовой кислоты на митохондрии клеток эукариот обсуждается.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и правительства Московской области в рамках научного проекта № 17-44-500584.

ФОРМИРОВАНИЕ БЕЛКОВОЙ КОРОНЫ НА ПОВЕРХНОСТИ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ

А. Б. Костюк¹, Е. А. Сергеева^{1, 2}, М. Ю. Кириллин^{1, 2}, А. Д. Воротнов¹, Л. Лианг³, Ю. Лу³,
А. В. Звягин^{1, 3, 4}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kostyukalexey@mail.ru

²Институт прикладной физики РАН, 603950 Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

³Университет Маккуори, 2109, Австралия, Сидней, Балаклава-роуд

⁴Сеченовский университет, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8

Одной из наиболее актуальных задач, стоящих перед нанотехнологиями, является разработка и создание наночастиц (НЧ) с хорошо контролируруемыми физико-химическими свойствами для биомедицинских применений. В то время как в буферном растворе свойства и поведение НЧ можно точно охарактеризовать, в условиях окружения НЧ биологическими средами это становится затруднительным. При нахождении НЧ в биологических средах на их поверхности формируется слой адсорбированных белковых молекул, называемый «белковая корона». Данный слой играет ключевую роль в дальнейшем взаимодействии НЧ с живой системой, включая клеточную интернализацию, биораспределение, выведение из организма и токсичность. Изучение процесса формирования белковой короны на поверхности НЧ позволит предсказывать физиологические ответы на воздействие НЧ и быстро проводить скрининг *in vitro* эффективности и токсичности новых НЧ.

Для исследования образования белковой короны на поверхности НЧ применяется широкий спектр методов, в большинстве из которых требуется предварительная очистка образца от несвязанных белков перед экспериментом, что вносит определенную долю искажений в получаемые результаты. Указанного недостатка лишен метод флуоресцентной корреляционной спектроскопии (ФКС), который позволяет количественно анализировать адсорбцию белков по изменению гидродинамического радиуса НЧ непосредственно в биологической среде, без выполнения процедур по отделению несвязанных с НЧ белков.

С помощью ФКС нами проведено исследование образования белковой короны на поверхности антистоксовых нанофосфоров (НАФ), представляющих собой неорганические нанокристаллы NaYF_4 , солегированные 20% Yb^{3+} и 8% Tm^{3+} , покрытые полиэтиленгликолем. Ключевой особенностью данного типа НАФ является фотолюминесценция в ближнем ИК-диапазоне, которая используется для визуализации НАФ в лабораторных животных *in vivo*.

Сравнительные исследования изменения гидродинамического радиуса НАФ были выполнены в водном растворе, среде для культивирования клеток DMEM и в полной культуральной среде DMEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС), содержащей большое число различных белков. В экспериментах использованы НАФ со средним размером нанокристаллов $28,1 \pm 2,2$ нм. В случае водного раствора гидродинамический радиус НАФ остается неизменным в течение нескольких месяцев, в то время как инкубация НАФ с DMEM и DMEM + 10% ФБС приводит к увеличению размера НАФ. При этом в случае с DMEM увеличение размера НАФ начинается после 3 часов инкубации, что приводит к образованию крупных кластеров НАФ (более 1 мкм), которые выпадают в осадок. В случае инкубации НАФ с DMEM + 10% ФБС скачкообразное увеличение размера НАФ относительно водного раствора происходит в течение первых 10 минут, после которых наблюдаются переходные процессы длительностью до нескольких часов и выход к равновесному состоянию (24 часа). В течение первых часов инкубации в результате образования белковой короны происходит агрегация НАФ, что приводит к их седиментации. В результате к 24 часам в растворе DMEM + 10% ФБС наблюдается градиент концентрации частиц по глубине, а размер НАФ увеличивается более чем в 10 раз.

Разработка методики ФКС выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (проект 14.Z50.31.0022), экспериментальные ФКС исследования проведены при поддержке РФФИ (проект № 18-34-00723).

МОДУЛЯЦИЯ НЕОРГАНИЧЕСКИМ ФОСФАТОМ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ МИТОХОНДРИЙ, ИНДУЦИРОВАННОЙ СВОБОДНЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ И Ca^{2+}

О. Э. Краснощёкова, К. С. Теньков, В. С. Старинец, В. Н. Самарцев, И. Э. Иванова, М. В. Дубинин

Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
krasnoschekova08@gmail.com

Ранее нами было показано, что продукты ω -окисления свободных жирных кислот способны индуцировать кальций-зависимую циклоспорин А (ЦсА)-нечувствительную неспецифическую проницаемость внутренней мембраны митохондрий печени крыс. Предполагается, что формирование такой проницаемости обусловлено полиморфными фазовыми переходами, приводящими к перестройке мембраны органелл, формированию небислойных структур и последующему слиянию мембран.

В настоящей работе на изолированных митохондриях печени крыс нами исследовано действие α,ω -гексадекандикарбоновой кислоты (ГДК) как индуктора Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации внутренней мембраны (митохондриальной поры) в отсутствие и присутствии блокатора такой поры – ЦсА и одного из эффективных ее модуляторов – неорганического фосфата (P_i). Показано, что внесение ГДК к нагруженным Ca^{2+} митохондриям индуцирует эффективное набухание органелл, быстрый выход Ca^{2+} из матрикса и практически полное падение $\Delta\psi$, что свидетельствует об индукции Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации внутренней мембраны. Выяснено, что на такие эффекты ГДК не влияют ЦсА или P_i при условии их действия по отдельности. Вместе с тем в присутствии одновременно ЦсА и P_i ГДК, будучи добавленная к нагруженным Ca^{2+} митохондриям, не индуцирует их набухания, выхода Ca^{2+} из матрикса и падения $\Delta\psi$. Исходя из полученных данных, P_i рассматривается как блокатор индуцированной ГДК Ca^{2+} -зависимой поры в присутствии ЦсА. Установлено, что такой эффект P_i устраняется при условии инкубации митохондрий с SH-реагентом мерсалилом, который известен как ингибитор переносчика P_i .

Сделано заключение, что Ca^{2+} -зависимый эффект ГДК можно рассматривать как формирование поры, чувствительной к совместному действию P_i и ЦсА.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 17.4999.2017/8.9).

МЕХАНИЗМ ГЕНЕРАЦИИ СТЕПЕННЫХ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЙ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЖГУТИКОВЫХ МОТОРАХ С ПОМОЩЬЮ БЕЛКОВОГО ШУМА

М. И. Кривоносов¹, В. Ю. Забурдаев^{1, 2}, С. В. Денисов^{1, 3}, М. В. Иванченко¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mike_live@mail.ru

²Институт физики сложных систем им. Макса Планка, Дрезден, Германия

³Институт физики, университет Аугсбурга, D-86135, Аугсбург, Германия

Основную часть биомассы на нашей планете составляют бактерии. Они бывают разных форм и размеров, могут плавать в воде и ползать по поверхности. Бактерии объединяются в колонии и находят способы адаптации к суровым условиям окружающей среды. Одним из способов приспособления клетки является реакция на изменения в окружающей среде за счет использования различных стратегий таксиса. Среди различных стратегий таксиса самым изученным является хемотаксис.

Движение бактерии *Escherichia coli* (кишечная палочка), вероятно, является наиболее известным примером бактериального плавания. Кишечная палочка имеет несколько жгутиков, которые могут вращаться по часовой стрелке (CW) или против часовой стрелки (CCW). Когда все жгутики вращаются против часовой стрелки, то они образуют единый пучок, и клетка выполняет направленное движение. Если один или несколько жгутиков переключаются в режим CW, то клетка останавливается и начинает вращаться на одном месте.

Для навигации в среде бактерии управляют моментами времени переключения направления вращения моторов: при благоприятном сигнале интервал движения удлиняется, но, когда сигнал неблагоприятен, интервал движения сокращается и увеличивается частота переключений. Таким образом, регулируя длину интервалов движения в одном направлении, бактерия выполняет блуждание, смещающее её к источнику аттрактанта или от репеллента.

Появление степенных распределений времени переключения специфично, поскольку оно не может быть выведено из простых термодинамических аргументов. Было высказано предположение, что, добавляя конечные временные корреляции в гауссовские флуктуации, регулирующие высоту энергии барьера между двумя состояниями вращения, можно получить статистику степенного переключения. Используя простую модель регуляторного пути, мы показываем, что требуемый коррелированный «шум» может быть вызван флуктуациями конечного числа взаимодействующих молекул белка, что является общим для внутриклеточной химии. Соответствующий степенной показатель выступает в качестве перестраиваемой характеристики, контролируемой параметрами регуляторной сети, таких как равновесное число молекул, чувствительность и характерное время релаксации.

Происхождение степенных распределений, обнаруженное в моделях подвижности многих живых организмов, от бактерий до акул и людей, остается загадкой. Несмотря на то, что можно согласиться с гипотезой о том, что этот тип распределений выбирался эволюцией как оптимальная стратегия выживания для наилучшего выполнения повседневных процедур, физиологические механизмы, определяющие степенной закон, ещё не до конца поняты. Наши результаты также имеют потенциальную актуальность для биоинженерингового хемотаксиса клеток, образования биопленок и целенаправленной доставки лекарств с помощью клеток.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект 16-12-10496).

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА SP17 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ТОЛСТОЙ КИШКИ

Т. А. Крупнова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tatanakrupnova96@gmail.com

Ген SP17 (sperm protein 17) расположен на 11 хромосоме. Ген кодирует белок, который способен увеличивать подвижность клетки с помощью белков группы АКАР (A-kinase anchoring protein), а также при взаимодействии с цепочками гепарансульфата мембранного белка синдекана-1 принимает участие в клеточной адгезии. Экспрессия гена SP17 в норме регистрируется в сперматозоидах, их предшественниках, а также в клетках яичников, и подавлена в остальных клетках организма человека. При злокачественной трансформации клеток отмечена активация и гиперэкспрессия гена SP17. Ввиду характера своей экспрессии в опухолевых клетках ген SP17 рассматривается как потенциальный биомаркер для диагностики и мишень для иммунотерапии онкологических заболеваний. Однако характеристика экспрессии гена SP17 в опухолях молочной железы и толстой кишки ранее не проводилась. В связи с этим целью данной работы явилось исследование экспрессии гена SP17 в опухолевых очагах больных раком молочной железы (РМЖ) и толстой кишки (РТК).

В работе использовали образцы опухолевых очагов от 14 больных РМЖ и 11 больных РТК, предоставленные РОНЦ им. Н.Н. Блохина и Нижегородской областной больницей им. Н.А. Семашко. Нуклеиновые кислоты выделяли с помощью метода фенол-хлороформной экстракции и обрабатывали ДНКазой. Проводили реакцию обратной транскрипции с использованием гексапраймеров и обратной транскриптазы вируса лейкемии мышей Молони (M-MLV-ревертаза). Амплификацию кДНК SP17 и β -актина проводили методом полимеразной цепной реакции. Результаты реакции регистрировали с помощью электрофореза нуклеиновых кислот в агарозном геле.

Матричная РНК гена домашнего хозяйства β -актина детектировалась во всех образцах опухолевых очагов. Матричная РНК SP17 была выявлена в опухолевых очагах 6 из 14 (43%) больных РМЖ. Матричная РНК SP17 была обнаружена в опухолевых очагах трех больных раком толстой кишки (27%). Частота обнаружения мРНК SP17 не была связана с наличием регионарных метастазов как у больных РМЖ ($p=0,26$), так и у больных РТК ($p=0,065$).

Таким образом, экспрессия гена SP17 детектируется с разной частотой в клетках опухолей молочной железы и толстой кишки. Полученные результаты требуют подтверждения в связи с малой выборкой больных РМЖ и РТК.

РАЗРАБОТКА ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ВЕКТОРА, КОДИРУЮЩЕГО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ВАСЕ1

В. Г. Круть, Е. А. Епифанова, А. А. Бабаев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *krutvika@mail.ru*

Болезнь Альцгеймера (БА) является самым распространённым нейродегенеративным заболеванием людей старшего возраста. Точная причина БА пока не известна. Однако является общепринятым, что в патологии как спорадической, так и наследственной болезни Альцгеймера, центральную роль играет β -амилоид ($A\beta$), образующийся путем протеолиза из белка предшественника амилоида (APP). При амилоидогенном расщеплении APP проходит 2 последовательные эндопротеолитические стадии, осуществляемые β - и γ -секретазами. ВАСЕ1 (Beta-site APP-cleaving enzyme 1) расщепляет APP в области N-конца β -пептида, чем инициирует процесс образования $A\beta$, а дальнейшее расщепление осуществляет γ -секретаза. Таким образом, использование ВАСЕ1 для наработки $A\beta$ в *in vitro* модели БА для дальнейшего поиска терапевтических агентов является перспективным направлением биомедицинских исследований.

Внесение гена ВАСЕ1 в культуру клеток мозга возможно с помощью генно-инженерных конструкций. Вирусные вектора, создаваемые на основе рекомбинантных аденоассоциированных вирусов, являются одними из наиболее эффективных и безопасных способов доставки генетической информации. В связи с этим, целью исследования является создание аденоассоциированного вирусного вектора для экспрессии в клетках мозга гена, кодирующего β -секретазу.

Основой вирусного конструктора была выбрана бактериальная плаزمид AAV-Syn-kid2. В ходе работы была подобрана система праймеров, используемая при амплификации β -секретазы, в состав которых внесены сайты рестрикции для последующей рестрикции и лигирования в конструируемый вектор. Была проведена наработка кодирующей ДНК, также были определены температуры и время реакции, позволяющие амплифицировать нуклеотидную последовательность ВАСЕ1 с использованием Phusion полимеразы. Начальная денатурация проводилась при температуре $+98^{\circ}\text{C}$ в течение 3 минут. Затем следовал рабочий цикл, повторяющийся 35 раз: $+98^{\circ}\text{C}$ – 15 с. – денатурация – $+68^{\circ}\text{C}$ – 30 с. – отжиг праймеров – $+72^{\circ}\text{C}$ – 1 мин. – элонгация. И после этого следовала финальная достройка цепей при температуре $+72^{\circ}\text{C}$ в течение 7 минут. Таким образом, была получена последовательность гена ВАСЕ1, результат чего был визуализирован на электрофореграмме.

В дальнейшем из шаттл-плазмиды AAV-Syn-kid2 с помощью хелперных плазмид – DJ vector и pHelper будет собран аденоассоциированный вектор, кодирующий ген ВАСЕ1.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РЯДА ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРИНА е6 КАК ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ С ПОВЫШЕННОЙ СЕЛЕКТИВНОСТЬЮ НАКОПЛЕНИЯ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

Л. В. Крылова, Н. Н. Пескова, В. Ф. Отвагин, Н. С. Кузьмина, А. Ю. Федоров, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lu.krylova@mail.ru

В настоящее время активно развиваются новые методы диагностики и лечения злокачественных новообразований, одним из которых является фотодинамическая терапия (ФДТ). Терапевтический эффект этого метода лечения основан на селективном накоплении в опухолевой ткани молекул фотосенсибилизаторов (ФС), способных взаимодействовать с оптическим излучением определенной длины волны и генерировать цитотоксические агенты (активные формы кислорода, свободные радикалы), вызывающие гибель клеток. Данный метод в основном применим для поверхностных опухолей (рак кожи, головы и шеи), а также опухолей полых органов (рак пищевода, желудка, кишечника и т.д.). Более широкое применение ФДТ ограничивается рядом факторов, одним из которых является селективность накопления ФС в опухолевой ткани. Способом регулирования распределения ФС является сопряжение биологически активного агента с макромолекулами – антителами, полисахаридами, пептидами, факторами роста и т.д.

Целью работы являлось исследование фотофизических свойств, внутриклеточной локализации и фотодинамической активности ряда потенциальных агентов для ФДТ, а именно, производных хлорина е6, представляющих собой конъюгаты хлорина е6 с моносахаридами (галактозой и глюкозой), дисахаридом галактозы, биотином и лигандом, связывающимся с киназным доменом рецепторов VEGFR и EGFR (OVF400), которые селективны к опухолевым клеткам.

Спектры поглощения, возбуждения и эмиссии флуоресценции исследованных соединений регистрировали с помощью планшетного спектрофотометра-спектрофлуориметра Synergy Mx. Квантовый выход флуоресценции рассчитывали относительно родамина Б. Исследование функциональных свойств проводилось на культуре клеток линий А-431 (эпидермальная карцинома кожи человека) и СНО (клетки яичника китайского хомячка). Для исследования внутриклеточной локализации клетки инкубировали 4 часа с соединениями в концентрации 5 мкМ, изображения получали с помощью конфокального микроскопа Axio Observer Z1 LSM 710. Цитотоксичность соединений определяли с помощью МТТ-теста. Для анализа фотодинамической активности культуру клеток облучали в дозе 20 Дж/см² на длине волны 670 нм.

Показано, что все исследованные соединения характеризуются интенсивным поглощением с максимумами при 410 нм и 635 нм и характерной для красителей хлоринового ряда флуоресценцией в длинноволновой области (625–700 нм). Квантовый выход не превышает 10%. Соединения накапливаются в клетках в течение 4 часов и распределяются во внутриклеточных мембранах, при этом интенсивность накопления зависит от лиганда, присоединенного к хлорину е6. Показано, что темновая токсичность и фотодинамическая активность соединений сильно варьирует, различаясь более чем на порядок.

Полученные данные позволяют рассматривать некоторые из исследованных производных хлорина е6 в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (Задание № 6.3099.2017/ПЧ).

СРАВНЕНИЕ ВЕЛИЧИН БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПОЧЕЧНЫМИ ПАТОЛОГИЯМИ

М. М. Кудрявцева¹, Г. П. Дробот¹, А. Ю. Андреева¹, С. Н. Соломонов²

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
mariya.kudryavts@gmail.com

²Йошкар-Олинская городская больница, 424005, Йошкар-Ола, ул. Карла Либкнехта, 55

Среди воспалительных почечных заболеваний пиелонефрит – самое распространенное. По статистике оно встречается у каждого десятого человека и по частоте проявления уступает только инфекционным заболеваниям легких и дыхательных путей. Хронический пиелонефрит (ХП) не имеет ярко выраженных проявлений, протекает почти бессимптомно по сравнению с острой формой и поэтому он гораздо опаснее. Чаще всего болезнь возникает как результат не до конца вылеченного острого пиелонефрита (ОП). Он может тянуться месяцами и даже годами, постепенно разрушая почки и выводя их из строя. Вовремя выявить пиелонефрит и точно определить форму его протекания зачастую не удастся, особенно в условиях поликлиники. Это связано с многообразием клинических проявлений заболевания, а также с его сравнительно частым латентным течением. Поэтому очень важно проводить раннюю диагностику пиелонефрита, а именно изучить биохимические параметры сыворотки крови, такие как концентрация мочевины и креатинина, чтобы установить функциональное состояние почек. Цель работы заключалась в определении концентрации мочевины и креатинина у больных с различными почечными патологиями в сыворотке крови.

Исследование проведено в Йошкар-Олинской городской больнице и на кафедре биохимии, клеточной биологии и микробиологии Института медицины и естественных наук Марийского государственного университета. Известно, что острый пиелонефрит встречается у женщин в пять раз чаще, чем у мужчин, поэтому объектом исследования служила сыворотка крови лиц женского пола с хроническим и острым пиелонефритом от 18 до 89 лет. Содержание креатинина в сыворотке крови определяли с помощью набора реагентов «КРЕАТИНИН-UTS» полуавтоматическим методом, основанным на реакции Яффе. Содержание мочевины определяли также полуавтоматическим методом с помощью набора реагентов «МОЧЕВИНА-UTS». Для статистической обработки полученных результатов использовалась компьютерная программа Statistica 6.

В ходе проведенных исследований было установлено, что дисперсии неоднородны, поэтому далее пользовались непараметрическими методами обработки статистических данных: критерием Краскела-Уоллиса и критерием Манна-Уитни, а также коэффициентом ранговой корреляции Спирмена. Установлено, что величины показателей мочевины у больных ХП увеличиваются с возрастом ($r=0,47$; $p=0,006$), такая же картина наблюдается у больных ОП ($r=0,52$; $p=0,017$). Показатель мочевины у исследуемых групп больных значительно возрастает после 60 лет. Содержание креатинина у больных ХП также увеличивается с возрастом ($r=0,38$; $p=0,029$). По уровню содержания креатинина в крови статистически значимых различий между больными ХП и ОП, а также между возрастными группами пациентов не было выявлено.

Сравнение уровней содержания мочевины в сыворотке крови у больных (18–59 лет) хроническим и острым пиелонефритом показало статистически значимые различия: у больных ХП данный показатель выше ($U=55,0$; $p=0,005$). Для больных (18–59 лет) ОП показатель мочевины в крови составил $3,64 \pm 0,34$ ммоль/л, варьируя от 2 до 6,7 ммоль/л. У больных ХП этот же показатель варьировал в пределах от 2,7 до 11,6 ммоль/л, составляя в среднем $5,34 \pm 0,47$ ммоль/л.

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ СКАФФОЛДЫ ДЛЯ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦИИ И НЕЙРОРЕГЕНЕРАЦИИ

А. И. Кузнецова¹, Е. В. Митрошина¹, Т. А. Мищенко¹, О. М. Широкова², М. В. Ведунова¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alisik.k15@gmail.com

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603081, Нижний Новгород,
просп. Гагарина, 70

Скаффолды – биоактивные матрицы для нейротрансплантации. Наше внимание привлекли скаффолды на основе гиалуроновой кислоты, способной нейтрализовать свободные радикалы, активизирующей функционирование клеток, стимулирующей регенерацию тканей. Цель исследования – изучить особенности культивирования культур диссоциированных клеток гиппокампа при использовании скаффолдов на основе гиалуроновой кислоты.

В эксперименте были задействованы интактные культуры диссоциированных клеток гиппокампа с и без добавления полиэтиленимина (ПЭИ), культуры, культивируемые на скаффолдах различной архитектоники на основе гиалуроновой кислоты. Конструкты были изготовлены методом микромолдинга, содержали конусообразные поры (~250 мкм), распределенные по поверхности. Культуры клеток получали от 18-дневных эмбрионов мышей линии SHK, жизнеспособность которых поддерживали в условиях CO₂-инкубатора при +35,5°C и газовой смеси, содержавшей 5% CO₂. Замену питательной среды (94,5% Neurobasal, 4% B27, 1% L-глутамин, 0,5% эмбриональная телячья сыворотка) проводили через 2 суток. Развитие культур оценивали с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа DMIL HC (“Leica”) в течение 14 суток. В ходе культивирования в конце первых суток было обнаружено прикрепление клеток к основанию конусообразных пор и поверхности скаффолдов. В дальнейшем на поверхности конструктов наблюдалось образование сложных сплетений отростков нервных клеток. Характер развития культур интактных групп с добавлением ПЭИ и клеток, располагающихся вокруг и под скаффолдами, не отличался на протяжении культивирования. В интактных группах без добавления ПЭИ наблюдалось формирование клеточных кластеров. В связи с чем можно сделать вывод, что состав данных скаффолдов благоприятствует адгезии диссоциированных клеток гиппокампа не только на своей поверхности, но и на культуральном пластике в ходе биодеградации материала. По данным сканирующей электронной микроскопии (микроскоп JSM-IT300) был проведен анализ и сравнение морфометрических показателей культур четырех экспериментальных групп (программа ImageJ). Было показано, что диаметр Ферета практически не отличается во всех исследуемых группах, при сравнении площади поверхности отдельных клеток и их конгломератов обнаружены значительные отличия. При проведении кальциевого имиджинга (микроскоп Zeiss LSM 510 NLO DuoScan, флуоресцентный зонд – Oregon Green 488 BAPTA-1 AM) было показано, что частота кальциевых осцилляций, возникающих у клеточных кластеров, расположенных на скаффолдах и связанных между собой, не превышает таковую у интактных культур, в отличие от их длительности. Процент активных клеток в интактных группах выше (74,43±15,81), чем на скаффолдах (25,21±11,64). Полученные результаты были статистически обработаны, достоверность различий между экспериментальными группами определялась в программе SigmaPlot 11.0. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

В ходе эксперимента было установлено, что все образцы скаффолдов являются нетоксичными для клеток и обладают достаточными адгезивными свойствами для прикрепления и развития культур диссоциированных клеток гиппокампа.

ТРАВЯНИСТАЯ РАСТИТЕЛЬНОСТЬ ПОЙМ РЕК УСА И ВОРКУТА

О. Е. Кузькина

Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, 167000, Республика Коми, Сыктывкар, Октябрьский просп., 55;

kzoles@rambler.ru

Изучение флористических комплексов пойменных лугов необходимо для решения вопросов сохранения биологического разнообразия растительных сообществ и решения практических задач сельского хозяйства. Растительность речных пойм играет важную роль в поддержании флористического разнообразия сосудистых растений. На европейском северо-востоке изучен видовой состав 25 парциальных флор пойменных экотопов. Слабо изученным остается пойма рек Воркуты и Усы.

В основу анализа положено 90 геоботанических описаний (10×10 м), которые сделаны лично автором и выполнены по стандартной флористико-геоботанической методике. Классификация растительности проведена по методу Браун-Бланке.

По ботанико-географическому районированию район исследования относится к Восточно-Европейской подпровинции, Европейско-Западносибирской тундровой провинции, Циркумполярной тундровой области. Господствующим типом растительности являются кустарниковые тундры, образованные березкой карликовой, ивами филиколистной, лапландской и сизой.

В результате исследований верхнего течения реки Усы было выделено 3 ассоциации, 4 субассоциации и 2 варианта отнесенных к трем союзам и двум порядкам класса *Molinio-Arrhenatheretea*. Пойма реки Усы в районе исследования слабо выражена, не превышает 100–300 м. Установлено, что в нижней части поймы узкой полосой шириной 10–20 м вдоль воды расположены сообщества *Petasites radiatus*. Сообщества ассоциаций *Alopecuro pratensis-Phalaroidetum arundinaceae* и *Alopecuro pratensis-Calamagrostietum* занимают низкие уровни поймы, перемежаются с ивняковыми сообществами. Ассоциация *Amorio repentis-Poetum pratensis* объединяет сообщества, встречающиеся на более высоких уровнях поймы.

Река Воркута в районе исследования имеет ширину 25–30 м, глубину 1,5–2 м. Пойма реки в районе исследования слабо выражена, двусторонняя, ее ширина составляет от 50 до 100 м, местами до 200 м. Рельеф поймы волнистый; зоны поймы выражены слабо. В нижней части поймы расположены сообщества ассоциаций *Amorio repentis-Poetum pratensis*, *Alopecuro pratensis-Phalaroidetum arundinaceae* и *Carici acutae-Phalaroidetum arundinacea*. Сообщества ассоциаций *Caricetum aquatilis* и *Elytrigio repentis-Bromopsidetum inermis* приурочены к невысоким гривам поймы. Ассоциация *Alopecuro pratensis-Deschampsietum cespitosae* объединяет сообщества, встречающиеся на всех участках поймы. Всего выделено 6 ассоциаций, 2 субассоциации и 4 варианта, отнесенные к 4 союзам, 3 порядкам и двум классам (*Phragmito-Magno-Caricetea*, *Molinio-Arrhenatheretea*).

В травянистых сообществах поймы р. Воркуты выявлено 94 вида сосудистых растений из 22 семейств, что составляет 33% видового состава локальной флоры Воркуты; в верхнем течении р. Усы – 104 вида из 29 семейств.

Таким образом, выделенные синтаксоны травянистой растительности Республики Коми вписываются в синтаксономическую систему Восточной Европы и азиатской части России. Травянистая растительность поймы р. Воркуты сходна с растительностью поймы верхнего течения р. Усы по видовому составу и разнообразию фитоценозов. Систематическая и географическая структура флористического состава луговых сообществ подтверждает черты, присущие евроазиатским гипоарктическим флорам. Специфику флористического состава травянистой растительности поймы верхнего течения составляют 30 видов арктического, арктоальпийского и гипоарктического происхождения.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РОДА *BACILLUS* ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЖИВОТНЫХ

А. С. Кузьмина, Т. Е. Денисенко

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23; kuzkuz1995@yandex.ru

В настоящее время при отборе и характеристике производственных культур микроорганизмов учитываются, главным образом, два показателя биологической характеристики: спектр и уровень антагонистической активности, и технологичность, т.е. способность к быстрому накоплению биомассы, выживаемость. Особое внимание уделяется критериям степени безопасности используемых микроорганизмов для здоровья человека и животных.

Целью моей работы было сравнить эффективность пробиотических препаратов на основе *Bacillus cereus* (Бактисубтил – медицинский препарат), *B. subtilis* (Ветом 1.1 – ветеринарный препарат) и смеси двух видов *B. subtilis* и *B. licheniformis* (OLIN – препарат, созданный на базе кафедры микробиологии МГАВМиБ им. К.И. Скрябина) в организме млекопитающих. Для достижения цели было необходимо изучить биологические свойства пробиотических штаммов, а также выявить антагонистическое действие препаратов как *in vitro*, так и *in vivo* на лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Для исследования были отобраны чистые культуры *B. cereus*, *B. subtilis* и ассоциация из *B. subtilis* и *B. licheniformis* в споровой форме. Перед исследованиями споры были пророщены на МПА. Для определения антагонистического действия препаратов на *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, мы производили одновременный посев *Bacillus* из препаратов с чистыми культурами тестовых бактерий на МПА. Для определения противогрибковой активности пробиотиков посев препаратов производили в среду со спорами плесневых грибов рода *Rhizopus*. Для исследования действия пробиотиков на кишечную палочку *in vivo*, мы провели эксперимент на лабораторных животных. Было взято 20 белых мышей инбредной линии BALB/CJLac, которых разделили на четыре группы: группа 1 (*B. cereus*), группа 2 (*B. subtilis*), группа 3 (*B. subtilis* и *B. licheniformis*) и группа 4 (контроль). Животным первых трех групп ежедневно скармливали лечебные дозы препаратов в течение 10 дней. Контрольные животные пробиотик не получали. После было проведено экспериментальное заражение всех групп культурой патогенной кишечной палочки подкожно в дозе 500 тыс. микр. тел/мл. В течение эксперимента во всех группах появилось потомство. В случае смерти животных или при вынужденном убое при наличии симптомов инфекционного заболевания, проводилось вскрытие и посев внутренних органов на ряд питательных сред и идентификация микроорганизмов.

Для дальнейших клинических исследований препаратов мы изучали трестируемые пробиотики на телятах (1 мес.) на базе животноводческого хозяйства «Правда». Взяли 3 группы по 5 телят: группа 1 (Ветом 1.1.), группа 2 (OLIN) и группа 3 (контроль). В течение 14 дней телятам выпаивали терапевтические дозы препаратов с молоком. Контрольной группе пробиотики не давали. Ежедневно отмечали клиническое состояние животных. Для изучения влияния на состав нормальной микрофлоры кишечника животных мы проводили бактериологические исследования фекалий телят. Данные исследования были проведены троекратно: до начала использования препаратов, в середине выпаивания и через сутки после последнего применения пробиотиков.

Исследования показали высокую антимикробную активность всех трех препаратов по отношению к патогенам, однако при клинических испытаниях мы получили данные, показывающие большую эффективность применения препарата, содержащего споры *B. subtilis* и *B. licheniformis*.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКОГО ФЕНОТИПА И ЛОКАЛИЗАЦИИ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЫ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ

Д. М. Кузьмина¹, И. И. Белоусова², И. В. Мухина²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dariak2294@gmail.com

²Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603950, ГСП-470, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Целью исследования является изучение последствий длительной блокады NMDA-рецепторов на комплекс поведенческих реакций мышей и локализацию перинейрональных сетей внеклеточного матрикса.

Исследование проводилось на мышах линии C57BL/6 (самцы), возраст 8 недель, n=20; использовался неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов – (-/-)МК-801. Блокада рецепторов осуществлялась в течение 10 дней. Контроль эксперимента осуществлялся путем введения одной группе животных физиологического раствора. Для исследования изменений памяти использовались следующие поведенческие методики: исследование пространственного ориентирования (радиальный лабиринт), социального поведения (тест Кроули), объектного распознавания. Затем было проведено иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов мозга животных.

В результате группы поведенческих экспериментов были выявлены нарушения фенотипических показателей мышей в результате длительного введения МК-801. При исследовании изменений пространственной рабочей памяти в радиальном лабиринте на фоне введения препарата МК-801 было выявлено постепенное ухудшение пространственного ориентирования животного, обусловленного нарушением работы нейронных сетей гиппокампа. Отклонений социальной активности животных выявлено не было: животные экспериментальной группы, так же, как и животные контрольной группы, достоверно меньше времени проводили в пустом отсеке по сравнению с отсеком с животным. В то же время, животные после курсового введения МК-801 выявили нарушения в предпочтении социальной новизны: они равное количество времени находились как в отсеке с незнакомым животным, так и в отсеке с уже знакомым животным. При исследовании объектного распознавания животные группы МК-801 проявляли стремление к изучению уже знакомого объекта, достоверно меньше времени изучая незнакомый объект, что говорит о нарушении рабочей памяти у животных в результате длительного введения МК-801.

Исследование парафиновых срезов мозга с использованием иммуногистохимического окрашивания показало, что в результате длительной блокады NMDA рецепторов происходит деградация перинейрональных сетей внеклеточного матрикса мозга, что подтверждается снижением агреган положительных нейронов в области миндалины головного мозга.

Таким образом, МК-801 вызывает ухудшение пространственной рабочей памяти, что свидетельствует о нарушении структуры нейронных сетей в области гиппокампа; социальная активность сохраняется, в то время как направленность на получение нового социального опыта в результате длительного введения МК-801 снижается; ослабевает способность к распознаванию неживых объектов. При этом длительное введение антагониста NMDA-рецепторов МК-801 вызывает деградацию перинейрональных сетей внеклеточного матрикса мозга в области миндалины.

РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ *IN VIVO*.

Е. И. Кукс, Н. Н. Шершакова, С. М. Андреев, М. Р. Хаитов

Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; el.kuks@yandex.ru

Пищевая аллергия (ПА) является потенциально опасным состоянием для жизни. Это заболевание оказывает негативное влияние на качество жизни и детей, и взрослых. Причина возникновения пищевой аллергии глубоко не изучена. Патогенез связывают с нарушениями в генах и влиянием окружающей среды. Клинические проявления пищевой аллергии разнообразны по форме, локализации и степени тяжести. Симптомы могут затрагивать кожные, респираторные, желудочно-кишечные и даже сердечно-сосудистые системы. Для разработки наиболее эффективного лечения пищевой аллергии необходимо понимать механизмы его развития. Для изучения механизмов данного заболевания *in vivo* мы разработали ряд различных мышинных моделей. Целью данного исследования выбрать наиболее адекватную модель для дальнейшего изучения механизмов пищевой аллергии.

Моделирование пищевой аллергии проводили на мышах линии BALB/c. В качестве модельного аллергена использовали овальбумин. Для проведения исследования мыши были поделены на пять групп. Первой группе («1 группа») сенсибилизацию мышей проводили внутрибрюшинно (в/б) OVA+Al(OH)₃ двукратно с интервалом 14 дней. После двух недель проводилось челленджирование путем интрагастрального (и/г) введения OVA через каждые два дня в течение 4 недель. Второй группе животных сенсибилизацию проводили путем подкожного (п/к) введения OVA+Al(OH)₃ двукратно с двухнедельным интервалом («2 группа»). Через 7 дней после сенсибилизации аллерген вводили и/г в течение недели ежедневно. Мыши третьей группы («3 группа») получали OVA+Al(OH)₃ в/б двукратно с двухнедельным интервалом. Через 3 недели после сенсибилизации мышей челленджировали и/г OVA два раза с интервалом три дня. Четвертой группе («4 группа») сенсибилизацию OVA проводили и/г 2 раза в неделю в течение месяца. Через 14 дней после сенсибилизации однократно вводили аллерген и/г. Пятой группе («5 группа») вводили OVA+Al(OH)₃ в/б двукратно с интервалом 14 дней. После сенсибилизации проводили и/г челлендж 2 раза в неделю в течение 3 недель. В ходе эксперимента проводился контроль массы тела и визуальная оценка аллергической диареи по бальной шкале. Уровень специфических антител IgE и цитокинов IL-4, IL-5, IL-12, INF- γ определяли методом ИФА (eBioscience, США (IgE, IL-5, INF- γ), BD OptEIA™, США (IL-4, IL-12)).

Было показано, что сенсибилизация овальбумином вызывает у мышей аллергическую диарею и потерю массы тела. Наибольшая степень проявления аллергической диареи наблюдалась во второй экспериментальной группе. В пятой группы было отмечено заметное снижение массы тела, после окончания челленджирования, по сравнению с остальными модельными группами. У мышей, сенсибилизированных подкожным («2 группа») и внутрибрюшинным способом («1 группа», «3 группа» и «5 группа»), концентрация специфических IgE антител была достоверно выше, относительно животных, сенсибилизированных и/г («4 группа»). Наиболее высокий уровень цитокинов IL-4 и IL-5, секретируемые Th2-клетками, были выявлены у мышей второй группы, где аллерген вводили п/к. Важно отметить, что уровень цитокинов Th1 типа IL-12 и INF- γ в указанной группе был ниже относительно других экспериментальных групп, что говорит о преобладании у животных, получавших аллерген п/к, Th2-иммунного ответа.

По результатам эксперимента можно сделать вывод, что по совокупности клинических и иммунологических показателей для дальнейших исследований нами была выбрана модель пищевой аллергии, где сенсибилизацию мышей проводили путем подкожного введения аллергена, а челленджирование осуществляли интрагастрально («2 группа»).

ФИТОПЛАНКТОН РАЗНОТИПНЫХ ВОДОТОКОВ ЗАБОЛОЧЕННОГО ЛЕВОБОЕРЕЖЬЯ ВОЛГИ (НА ПРИМЕРЕ РЕК ВЕТЛУГА, КЕРЖЕНЕЦ, ВИШНЯ)

П. В. Кулизин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

June10.07.95as@yandex.ru

В настоящее время особую актуальность и большую значимость приобретают многолетние исследования состояния фитопланктона как важнейшего биологического компонента водных экосистем. Структурно-функциональная организация фитопланктона отражает состояние водоема в целом и служит основой для оценки качества вод. Наблюдаемые изменения, связанные с поступлением органических и биогенных веществ, гидрофизических и химических свойств вод, несомненно, приводят к преобразованию биологических сообществ, в частности путем интенсификации проникновения чужеродных видов. Это приводит к изменениям в разнообразии аборигенной флоры и в итоге к изменению продуктивности водных экосистем. Цель работы – на основе многолетних исследований левобережных волжских притоков (Ветлуга, Керженец, Вишня) выявить основные тенденции изменения структуры потамопланктона и дать оценку его современного состояния. Материалом для работы послужили архивные (Керженец – 1994–1997, 2000–2002, 2008, 2014 гг., Ветлуга – 1986–1989, 2001, 2007–2008 гг., Вишня – 2000–2002 гг.) и собственные данные (Ветлуга – 2010, 2014, 2016 гг.; Керженец – 2016 г., Вишня – 2016 г.).

Общее богатство альгофлоры (с учетом литературных данных) в Ветлуге составило 381, Керженце – 542, Вишне – 327 видовых и внутривидовых таксонов. Основу таксономического разнообразия в Ветлуге и Керженце формировали отделы зеленых (37 и 45% от альгофлоры соответственно) и диатомовых (24 и 26%) со значительным участием эвгленовых (10 и 13%) и золотистых (6 и 7%) водорослей. Высокая цветность в сочетании с высоким содержанием железа в Вишне способствовала увеличению в общем составе доли эвгленовых водорослей (19%) при лидировании диатомей (34%). Трофический статус водотоков за период исследований соответствовал слабо мезотрофному, или мезотрофному уровню (биомасса варьировала от 0,52–2,07 г/м³ – Керженец, 0,37–4,38 г/м³ – Ветлуга, 0,081–0,953 г/м³ – Вишня). За последние несколько лет наблюдались заметные изменения ценотической структуры фитопланктона. При доминировании в Керженце в конце 90-х начале 2000-х центрической диатомеи *Melosira varians* в настоящий период ее роль снизилась и возросла доля динофлагеллят в летних ценозах. Среди них отмечено присутствие инвазийного вида *Peridiniopsis kevei*. Развитие данного вида наблюдалось на протяжении всего вегетационного периода 2016 г. с наибольшей биомассой при максимальном прогревании вод (0,807 г/м³ или 41% от общей биомассы). Результаты диатомового анализа показали присутствие в Керженце инвазийного вида *Thalassiosira incerta*. В Ветлуге в конце 80-х годов основными компонентами потамопланктона также выступали центрические диатомеи (*M. varians*, *Aulacoseira* sp., *Stephanodiscus* sp.). В современный период отмечается появление целого комплекса инвазийных видов, среди которых присутствует *P. kevei*, биомасса которого возрастает на протяжении ряда исследований (до 0,738 г/м³ или 26% от общей биомассы). Также отмечалось развитие инвазийных диатомовых (*Plagiotropis lepidoptera*, *Skeletonema subsalsum*) и синезеленых (*Planktotrix agardhii*) водорослей. В Вишне ценотическая структура фитопланктона претерпела меньше изменений, что вероятно связано со специфичностью условий, формируемых под влиянием заболоченного водосбора. Тем не менее отмечалось постепенное появление динофлагелляты *P. kevei*. Таким образом, многолетние исследования левобережных волжских притоков позволили выявить существенные перестройки в структуре их альгоценозов. Это требует дальнейшего мониторинга, направленного на оценку степени влияния чужеродных видов на состав аборигенной флоры и экологического состояния водотоков в целом.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ФОРМ БАКТЕРИИ *H. PYLORI* В ОБРАЗЦАХ БИОПСИИ ЖЕЛУДКА С ПОМОЩЬЮ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

*Е. А. Куприянова*¹, *С. Ю. Маланин*¹, *Д. Д. Сафина*¹, *С. Р. Абдулхаков*^{1,2}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; fewrandomletters@gmail.com

²Казанский государственный медицинский университет, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

Одной из распространенных причин заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как гастрит, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, может являться бактерия *Helicobacter pylori*. Лечение *H. pylori* подразумевает проведение эрадикационной терапии, включающей такие антибиотики как кларитромицин, амоксициллин, метронидазол и фторхинолоны. Однако растущая устойчивость бактерий к используемым лекарственным средствам все чаще становится причиной неэффективности подобного лечения. Микробиологические методы выявления резистентности на питательных средах с добавлением одного из антибактериальных препаратов отличаются длительностью и трудоемкостью. В связи с этим на передний план выходят молекулярно-генетические методы исследования, позволяющие быстро и достоверно выявить мутации с точечными заменами, ответственные за формирование резистентности. Целью данной работы являлось определение частоты встречаемости мутаций, приводящих к антибиотикорезистентности бактерии *H. pylori*, в биопсийном материале желудка с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и дальнейшего секвенирования.

Образцы биопсии слизистой оболочки желудка были получены от 62 пациентов, прошедших процедуру эзофагогастродуоденоскопии в Медико-санитарной части КФУ. Биологический материал гомогенизировали с помощью прибора FastPrep24 (MP Biomedicals), затем проводили выделение ДНК с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific) по протоколу выделения нуклеиновых кислот из тканей. С полученной ДНК проводилась ПЦР со специфическими праймерами к участкам генов, точечные мутации в которых являются причиной формирования резистентности к кларитромицину, амоксициллину, фторхинолонам и метронидазолу. Для обнаружения нуклеотидных замен ПЦР-продукты секвенировались на приборе 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems).

В результате проведения ПЦР было показано наличие *H. pylori* в 26 биоптатах. Устойчивость хеликобактера к кларитромицину вырабатывается в результате мутаций в гене 23S рРНК. Анализ данных секвенирования данного гена показал наличие ключевых замен (A2143C и A2144G), характерных для резистентных штаммов, в восьми образцах, а также пять случаев замен T2183C, ассоциированных с низким уровнем резистентности. Итого, было обнаружено 13 мутантных штаммов, что составляет 49% от числа исследованных образцов. Устойчивость к фторхинолонам обусловлена мутациями в гене *gyrA* ДНК-гиразы А, наиболее значимыми из которых являются аминокислотные замены Asn-87-Lys и Asp-91-Asn. Среди 26 человек лишь у трех (11%) обнаружили искомые мутации. Причиной невосприимчивости *H. pylori* к амоксициллину могут быть множественные мутации в гене пенициллин-связывающего белка *pbp1*. В нашем случае 13 образцов из 26 исследованных (50%) показали наличие замен, связанных с низким уровнем резистентности к данному антибиотику. Наконец, при исследовании устойчивости к метронидазолу, которая вызывается нонсенс-мутациями в гене *rdxA* NADPH-нитроредуктазы, не было выявлено ни одного случая замен в данном гене.

Таким образом, была проведена оценка частоты встречаемости мутантных форм *H. pylori*, устойчивых к различным группам антибиотиков. Обнаруженные высокие уровни устойчивости к кларитромицину и амоксициллину должны учитываться при проведении эрадикационной терапии.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК *E. COLI* ПРИ ГИПЕРПРОДУКЦИИ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА IbrA ИЗ *A. LAIDLAWII* В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА *Т. А. Куприянова*¹, *А. Р. Каюмов*^{1, 2}, *Л. С. Чернова*^{1, 2}, *И. В. Вишняков*²

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
nepelmen@gmail.com

²Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4

Белок IbrA из *Acholeplasma laidlawii*, принадлежит к классу малых белков теплового шока (мБТШ, м.м. 10–43 кДа). Синтез БТШ в клетках эу- и прокариот индуцируется в условиях стресса, в том числе температурного. Белки этого класса являются шаперонами и участвуют в восстановлении жизнедеятельности клетки после стресса: БТШ связываются с частично денатурированными полипептидами, предотвращая их необратимую денатурацию и агрегацию. Белок IbrA присутствует у представителя микоплазм, характеризующихся редуцированным геномом, что свидетельствует о фундаментальности его функций. Целью данной работы является установить влияние рекомбинантного белка мБТШ IbrA на выживаемость клеток *Escherichia coli* при температурном стрессе.

Исследовали выживаемость в условиях различных температур штаммов *E. coli* BL21 рЕТIbrA, способного к гиперпродукции белка; *E. coli* BL21 рЕТ15b, несущего исходный вектор, в качестве контроля; *E. coli* BL21 рЕТGlnR, продуцирующего белок GlnR, в качестве контроля токсичности гиперпродукции белка для клетки. Клетки выращивали до середины экспоненциальной фазы роста и вносили IPTG для индукции продукции белков. Через час после начала индукции клетки подвергали тепловому шоку +4°C, +30°C, +37°C, +42°C, +46°C и +52°C и определяли жизнеспособность клеток через 30 мин., 1 ч., 2 ч., 4 ч. путем подсчета КОЕ.

Исследования показали, что при температурах до 42 градусов не наблюдалось значимых различий в количестве жизнеспособных клеток всех трех штаммов. При температуре 46 и 52 градусов количество живых клеток *E. coli* BL21 рЕТIbrA превышало количество клеток контрольного штамма. Следовательно, белок IbrA из *A. laidlawii* способен повышать устойчивость клеток *E. coli* к тепловому стрессу.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-74-20065).

ВЛИЯНИЕ ПАРАЛОГОВ ГЕНА *OLI5* НА ИЗМЕНЕНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР *ARABIDOPSIS THALIANA*

А. М. Курчатова, И. А. Агабекян, Л. Р. Нигматуллина, Л. Р. Валеева, Е. В. Шакиров
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
cksana@mail.ru

Теломеры – это концевые участки хромосом, которые состоят из простых повторов ДНК и ассоциированных с ними белков. Теломеры играют важную роль в стабилизации и в сохранении целостности генома, они защищают концы хромосом от деградации и предотвращают слипание с другими хромосомами. С каждым делением клетки теломеры укорачиваются с 5'-конца дочерней цепи, что, при достижении теломерами критической длины, приводит к прекращению деления клетки и к старению. Длина теломер определяет количество клеточных делений у соматических клеток. Диапазон длинны теломер для каждого вида строго детерминирован, однако на сегодняшний день точный механизм регуляции длины теломер не известен. Долгосрочной целью нашего исследования является поиск генов, регулирующих длину теломер в *Arabidopsis thaliana*. Это растение является удобным модельным объектом, в частности для исследования механизмов регуляции длины теломер.

Ранее нами был открыт новый ген *NOP2a*, влияющий на изменение длины теломер растений. Согласно данным литературы в одном метаболическом пути с данным геном также находится ген *OLI5* [Fujikura et al., 2009]. Согласно литературным данным ген *OLI5*, кодирует рибосомальный белок L5, связывающийся с 5S рРНК растений. Целью данной работы является исследование нескольких нокаут-мутантов по гену *OLI5*, которые отличаются друг от друга расположением Т-ДНК вставки. Семена различных Т-ДНК мутантов были заказаны в коллекции семян мутантов SALK. Оценку гомозиготности мутантов проводили с помощью готовой реакционной смеси коммерческой полимеразы Emerland Amp GT PCR Master Mix (Clontech, USA) для проведения ПЦР. Измерение длины проводили с помощью TRF-анализа путем гибридизации меченой с 5'-конца DIG – пробы.

Мы провели скрининг анализ по длине теломер нокаут-мутантов *oli5-2* и *oli5-3*, они отличались друг от друга расположением Т-ДНК вставки. Нами было выявлено, что мутант *oli5-2*, гомозиготный по вставке Т-ДНК имеет более короткие теломеры по сравнению с диким типом. Чтобы удостовериться, что фенотип, наблюдаемый нами, действительно вызван инактивацией гена *OLI5-2*, а не другими мутациями в геноме, мы изучили длину теломер другом мутанте по гену *OLI5-3*, где тДНК вставка была в другом месте внутри гена. В ходе работы было проведено генотипирование Т-ДНК нокаутов растений по гену *OLI5-3* и выявлены растения гомозиготы. В настоящее время проводится измерение длины теломер в мутантах *oli5-3* для установления влияния этого гена на регуляцию длины теломер.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) Федерального Университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТАРГЕТНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ТОКСИНА НА ОСНОВЕ ЭКЗОТОКСИНА А И ДАРПИНА, СПЕЦИФИЧНОГО К РЕЦЕПТОРУ HER2

О. М. Кутова¹, Е. А. Соколова^{1,2}, Е. Л. Гурьев¹, С. М. Деев^{1,2}, И. В. Балалаева¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

rapicat@rambler.ru

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

В настоящее время активно развивается таргетная терапия – новый подход к лечению злокачественных новообразований. Рекомбинантные таргетные токсины являются перспективными агентами в этой области. Структура таргетных токсинов обуславливает их способность специфично связываться с молекулой-мишенью на поверхности клетки за счет наличия направляющего модуля и приводить к ее гибели за счет токсического модуля. Цель настоящей работы – исследовать противоопухолевую эффективность рекомбинантного токсина DARPIn-PE40. Данный таргетный токсин специфичен к рецептору HER2, гиперэкспрессия которого наблюдается на поверхности клеток многих типов эпидермальных опухолей. Направляющий модуль DARPIn-PE40 представлен каркасным белком неиммуноглобулиновой природы, который принадлежит к классу дарпинов. Данные белки создаются на основе повторов в молекуле якорного белка анкирина. В состав молекулы исследуемого таргетного токсина входит HER2-специфичный DARPIn9-29, полученный путем фагового дисплея. Токсический модуль DARPIn-PE40 представлен фрагментом (252613 а.о.) экзотоксина А синегнойной палочки.

Получение таргетного токсина проводилось путем наращивания биомассы клеток (штамм *E. coli* BL21(DE3), трансформированных вектором, несущим ген DARPIn-PE40, с последующей очисткой белка хроматографическими методами (металл-хелатная хроматография и гель-фильтрация). Аутентичность полученного противоопухолевого таргетного токсина подтверждалась методами ПААГ-электрофореза в денатурирующих условиях (соответствие молекулярной массы теоретически рассчитанной) и вестерн-блоттинга (специфичное подтверждение наличия гексагистидиновой последовательности). Была подтверждена HER2-специфичная цитотоксичность DARPIn-PE40 на клеточных линиях с различным уровнем экспрессии HER2 методом МТТ-теста.

Противоопухолевая активность DARPIn-PE40 была проверена на иммунодефицитных мышцах линии Balb/c nude с подкожно привитой человеческой опухолью молочной железы SKBR3. Инъекции DARPIn-PE40 производились через день в хвостовую вену в общей дозе 25, 50 и 80 мкг/животное. Животные контрольной группы получали инъекции фосфатно-солевого буфера. Мониторинг опухолевого роста продолжался вплоть до достижения экспериментальными опухолями объема 2500 мм³, после чего животные подвергались эвтаназии. Было выявлено дозозависимое снижение скорости роста опухолевых узлов в исследованных группах животных и значительное увеличение продолжительности их жизни в сравнении с контрольной группой. Таким образом, таргетный противоопухолевый токсин DARPIn-PE40 представляется перспективным агентом для HER2-гиперэкспрессирующих опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 17-00-00119 и 17-00-00121).

РЕПАРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИАЛЬНОГО БЕЛКА ЛИСТЕРИЙ ИНТЕРНАЛИНА В

А. Я. Лаврикова, Е. В. Сысолятина, К. А. Собянин, Е. В. Калинин, Я. М. Чаленко,
С. А. Ермолаев

Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18;
lavrikovaaleksandra@gmail.com

Белок интерналин В (InlB) – важный фактор патогенности грамположительных бактерий *Listeria monocytogenes*, необходимый для активной инвазии в эпителиальные клетки. InlB взаимодействует с трансмембранным тирозинкиназным рецептором с-Met, активация которого его естественным лигандом – фактором роста гепатоцитов (HGF), – приводит к инициации ряда сигнальных каскадов, ведущих к пролиферации, подвижности и клеточной жизнеспособности (регулирующих пролиферацию и/или миграцию клеток). Целью данной работы было изучение регенеративного потенциала очищенного белка InlB на модели скарифицированных ран лабораторных мышей.

Рекомбинантный интерналин В, несущий метки His-tag, был наработан в штамм-продуценте *Escherichia coli* BL21, затем очищен с помощью магнитных наночастиц Dynabeads (Invitrogen, США). Мышам линии Balb/c наносили скарифицированные раны в область спины средней площадью 150 мм². Далее белок в смеси с глицерином (300 мкг /мл) был нанесен на раневую поверхность. В качестве контроля использовали стерильный глицерин. Площадь ран измеряли на 1, 3, 6, 8, 9, 10, 12 и 18 дни.

Интерналин В ускорял заживление ран, начиная с третьего дня. Наблюдалось более быстрое отторжение струпа (на третий день у мышей, обработанных белками и на шестой – в контроле). 50% время закрытия раны (СТ50) составило для 4,18±0,91 дня, в то время как в контроле 5,51±1,21 день. Время полного заживления ран – 12 дней для животных, обработанных препаратами белка, и 14 дней для контрольных животных.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что бактериальный белок InlB может обладать потенциалом как фармацевтический агент (активное действующее вещество) в лекарственном и косметологическом препаратах для лечения поверхностных ран, а также, возможно, алопеции, так как его применение привело к ускорению зарастания волосяного покрова мышей на 6 день эксперимента.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИОННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ РАСПРОСТРАНЕНИИ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА У ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

М. М. Ладейнова, Е. В. Березина, В. А. Воденев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ladeynova.m@yandex.ru

Реакция высших растений на неблагоприятные условия окружающей среды сопровождается как электрическим ответом, так и изменением содержания фитогормонов. Электрический ответ на локальное действие повреждающих факторов носит название переменного потенциала (ВП) и представляет собой переходное изменение мембранного потенциала. ВП является дистанционным электрическим сигналом, распространяющимся на значительные расстояния. Ряд неблагоприятных условий вызывают в растениях синтез важнейшего гормона растений – абсцизовой кислоты (АБК), участвующей в адаптации к абиотическим стрессам. АБК также может выступать регулятором функционального ответа, индуцированного ВП. Поэтому необходимо установить связь между двумя типами стрессовых сигналов растений – гормональным и электрическим.

Эксперименты проводились 14-21-дневных проростках гороха (*Pisum sativum*). ВП вызывали температурным воздействием различной интенсивности. Электрическую реакцию регистрировали внеклеточно с помощью макроэлектродов. Качественный и количественный анализ содержания АБК осуществлялся методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Для этого контрольные и опытные растения фиксировали жидким азотом, гомогенизировали для приготовления экстрактов, и после концентрирования и очистки анализировали пробы на жидкостном хромато-масс-спектрометре Shimadzu LCMS-8040.

Данный метод позволяет идентифицировать АБК в растительных экстрактах и оценить с высокой точностью различия в содержании АБК как в контрольных растениях между его частями и органами, так и сравнить содержание АБК опытных и неподвергнутых повреждающему воздействию проростков гороха. Различия в разных частях растения по концентрации АБК обусловлены её локальным синтезом в определённых органах, однако, при распространении стрессового сигнала происходит перераспределение содержания АБК, которое может играть роль в регулировании функционального ответа, и тем самым даёт возможность растению адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды. Изменения в синтезе АБК, по-видимому, являются следствием распространения волны комплексной природы, включающей электрический компонент.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №18-34-00606).

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛЬЦИЯ ПРИ РАСПРОСТРАНЕНИИ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА

М. М. Ладейнова, Л. А. Катичева, Е. К. Акинчиц, В. А. Воденеев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Высшие растения способны реагировать на изменение факторов окружающей среды при помощи электрических сигналов. Ответы на неблагоприятные факторы сопровождаются изменением концентраций различных ионов, среди которых центральная роль принадлежит ионам кальция. В работе производилась оценка изменения концентрации Ca^{2+} в побеге проростков гороха при распространении электрического сигнала, индуцируемого локальным повреждением. Данный электрический сигнал представляет переходное изменение мембранного потенциала и носит название вариабельного потенциала (ВП).

Эксперименты проводились на проростках гороха (*Pisum sativum*) 2–3-недельного возраста. ВП индуцировали нагревом листа в кювете со стандартным раствором. Контроль распространения электрического сигнала осуществлялся с помощью макроэлектродов. Для исследования динамики концентрации Ca^{2+} в клетках стебля проростков гороха был использован Ca^{2+} -чувствительный флуоресцентный зонд fluo-4, АМ. Регистрация внутриклеточных изменений концентрации кальция осуществлялась методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, на уровне целого растения для регистрации использовалась установка флуоресцентного имиджинга. Для ратиометрического анализа изменения ионной концентрации кальция был использован Ca^{2+} -чувствительный флуоресцентный зонд fuga-2, АМ и спектрофлуориметр.

Для загрузки АМ-содержащих зондов в клетки стебля проростков гороха был разработан протокол, включающий низкотемпературный этап загрузки. Осуществлялся подбор условий при загрузке зонда. Выбранный способ загрузки использовался для последующей регистрации изменений концентрации кальция при генерации ВП. Было показано возникновение кальциевого сигнала и его развитие параллельно с электрическим: при съёмке временной серии зарегистрировано временное повышение интенсивности флуоресцентного сигнала от внутриклеточного зонда fluo-4, АМ. При изучении изменения концентрации Ca^{2+} на уровне целого растения наблюдалась корреляция флуоресцентного и электрического сигналов с увеличением расстояния от места повреждения. С использованием ратиометрического анализа осуществлено количественное определение изменений Ca^{2+} внутри клеток стебля проростков гороха.

Таким образом, проведенное исследование позволяет предположить, что сигнал, индуцированный локальным повреждающим фактором, представляет совокупность электрической и кальциевой волн.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (контракт №18-34-00606).

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ *HELICOBACTER PYLORI* НА ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ T-REG КЛЕТОК И ПРОДУКЦИЮ ИМИ IL-10

***В. А. Ланин*^{1,2}, *Д. А. Мелентьев*^{1,2}, *Е. В. Моханова*², *М. В. Талаева*², *М. И. Цыганова*²**

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
fridens.95@yandex.ru

²Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Существуют данные что многие патогенные микроорганизмы в определенной степени влияют на дифференцировку клеток иммунной системы, в частности Т-клеток. В то же время имеются работы, которые указывают на способность микроорганизмов влиять на дифференцировку клеток иммунной системы в сторону, способствующую их адаптации и выживанию в организме. В частности, данная особенность описана для *Helicobacter pylori*. У многих пациентов, инфицированных данным патогеном, значительно повышается содержание FoxP3-положительных Т-регуляторных (Т-reg) клеток. В связи с этим можно предположить, что *H. pylori* повышает число Т-reg клеток, дабы уйти от эрадикации иммунной системой. Гипотеза существования прямого модулирующего действия патогена на отвечающие лимфоциты является наиболее легко проверяемой и имеющей ограниченное экспериментальное подтверждение. Цель исследования – оценить способность *H. pylori* влиять на дифференцировку Т-клеток иммунной системы и на продукцию регуляторного цитокина интерлейкина-10 (IL-10).

Материалы и методы. Для оценки нами была получена чистая культура *H. pylori*, с которой в дальнейшем производилось сокультивирование Т-клеток человека без участия профессиональных антигенпрезентирующих клеток. После чего производилась оценка дифференцирующего действия *H. pylori* в разных концентрациях на Т-лимфоциты, которое оценивалось цитофлюорометрическим методом по изменению содержания в культуре Т-reg клеток как клеток фенотипа CD4+CD25+FoxP3+.

Результаты. В контрольных культурах лимфоцитов без содержания *H. pylori* и дополнительных стимуляторов содержание Т-reg клеток составляло $6,005 \pm 1,43\%$. Но при сокультивировании Т-клеток с *H. pylori* в течение 18 часов в соотношении 1:10 происходило повышение числа Т-reg до $15,035 \pm 3,93\%$. В культурах с соотношением лимфоцитов к бактериям 1:20 и 1:50 наблюдалось повышение содержания Т-reg клеток примерно в 2 раза ($12,7 \pm 1,53\%$ для соотношения 1:20 и $10,42 \pm 1,97\%$ для соотношения 1:50). Для сравнения нами были поставлены дополнительные эксперименты с использованием стимулирующих антител к молекулам CD3 и CD28, которые имитируют сигнал подобный стимуляции от антигенпрезентирующих клеток. При этом содержание Т-reg клеток в культурах, стимулированных как CD3, так и смесью антител CD3+CD28, не отличалось от содержания Т-reg в культурах, стимулированных *H. pylori*.

Для прояснения общей картины влияния *H. pylori* на ответные реакции иммунной системы нами была произведена оценка продукции Т-клетками противовоспалительного цитокина IL-10. В культурах без добавления *H. pylori* его содержание составляло $0,75 \pm 1,5$ пг/мл. Однако, при сокультивировании Т-лимфоцитов с *H. pylori* в течение 18 часов и соотношении 1:10, происходило значительное повышение количества IL-10 до $160,75 \pm 84,27$ пг/мл.

Таким образом, *H. pylori* в отсутствие профессиональных антигенпрезентирующих клеток направлял дифференцировку лимфоцитов в сторону Т-reg клеток на уровне активации антителами и способствовал повышению продукции регуляторного цитокина IL-10.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ДИАПАЗОНА НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА КРЫС

Н. А. Лантаса

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Lana95tasa@mail.ru

Изучение биологических эффектов ТГЧ-излучения представляет значительный интерес как для теоретической, так и для практической медицины. Терагерцовый диапазон частот (ТГЧ) лежит на границе между электроникой и фотоникой от 100 ГГц до 10 ТГц (1 ТГц = 103 ГГц) или в длинах волн от 3 мм до 30 мкм, то есть располагается на шкале электромагнитных волн между КВЧ и оптическим инфракрасным диапазонами.

Интерес вызывают немногочисленные исследования воздействия терагерцовых волн на клетки, ткани, органы и системы органов в условиях *in vivo*. Следует отметить изменения нервной и гуморальной регуляции под действием терагерцового облучения. Так, установлено, что терагерцовые волны способны оказывать влияние на центральную нервную систему и высшую нервную деятельность у животных.

Целью данной работы являлось изучение влияния электромагнитного поля терагерцового диапазона на вариабельность сердечного ритма (ВСР) крыс и, соответственно, исследование ВСР крыс после воздействия электромагнитного поля терагерцового диапазона на 7, 14, 28 сутки после многократного облучения.

Объектом исследования являлись нелинейные белые крысы (самки) массой 180–200 г в количестве 20 животных. При проведении исследований крысы были разделены на группы. При облучении они помещались в цилиндрическую камеру диаметром 210 мм и высотой 150 мм. Камера имела светонепроницаемые, закрывающиеся нижнюю и верхнюю крышки и периферические светонепроницаемые вентиляционные отверстия. На дне камеры находился вращающийся пол, частота вращения 1 оборот за 5 мин., который дополнительно перемещался по вертикали относительно центра (качался) на 5–10 мм. В вертикальной стенке камеры на высоте 130 мм, через отверстие диаметром 5 мм в камеру через волновод поступало электромагнитное излучение (ЭМИ) терагерцового диапазона от генераторной лампы. Действие на животных ЭМИ осуществляли в камере по 10 минут ежедневно в течении 15 дней. По окончании 15-дневного воздействия ЭМИ, у животных на 7, 14 и 28 сутки регистрировали кардиограмму.

Установлено в ходе исследований, что вариабельность ритма Dх достоверно увеличивается с $0,01 \pm 0,003$ до $0,03 \pm 0,02$ с., что говорит об увеличении активности парасимпатического тонуса и снижении активности симпатического тонуса. Это отражает и увеличение индекса HF %, который достоверно возрос с $38,4 \pm 2,45$ до $53,8 \pm 4,3\%$. Активация парасимпатических структур вызвала и понижение гуморальных влияний – уменьшение индекса VLF с $35,45 \pm 4,05$ до $18,82 \pm 2,22\%$. Индекс LF/HF практически не изменился.

В результате исследований показано влияние парасимпатической нервной системы на снижение энергетического обмена организма животных и стабилизации гомеостаза при многократном действии электромагнитного излучения терагерцового диапазона.

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛ- β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ОСМОТИЧЕСКУЮ ВОДНУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПРОТОПЛАСТОВ И ВЕЗИКУЛ ПЛАЗМАЛЕММЫ

Н. К. Лапшин, М. С. Пиотровский

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 129276, Москва,
ул. Ботаническая, 35; *TheNinthHost@gmail.com*

Основная функция биологических мембран в водном обмене – обеспечить функционирование механизмов сопряженного транспорта воды и осмотиков между клеткой и ее окружением. Вода, движущей силой транспорта которой является градиент водного потенциала, переносится через мембраны двумя путями – через липидный матрикс и интегральные белки канального типа – аквапорины. Аквапорины растений представлены несколькими семействами, в том числе PIP1 и PIP2, характерными для плазматических мембран. Таким образом водная проницаемость мембран зависит от содержания в них аквапоринов, их функциональной активности и состава липидного бислоя. Исследование устойчивости биологических мембран к неионным детергентам показало присутствие в них доменов, характеризующихся повышенным содержанием стерина и гликофинголипидов. Предполагается, что эти липиды способны создавать условия для сегрегации определенных белков, объединяя их в функциональные мембранные комплексы. PIP-аквапорины обнаруживаются в детергент-устойчивой фракции плазмалеммы. Ингибиторы синтеза стерина и сфинголипидов способны влиять на трафик везикул и содержание в мембранах PIP2-аквапоринов. Однако до сих пор неизвестно, способно ли липидное окружение модулировать функциональную активность этих белков.

Здесь мы попытались ответить на этот вопрос, исследуя осмотическую водную проницаемость везикул плазмалеммы, изолированной из этиолированных побегов проростков гороха (*Pisum sativum*), и протопластов мезофилла *Arabidopsis thaliana*. За кинетикой осмотического сжатия везикул плазмалеммы и протопластов следили по изменению светорассеяния методом остановленного потока и размеров последних, фотографируя их на инвертированном микроскопе, соответственно. Размеры везикул плазмалеммы определяли методом динамического светорассеяния, протопластов – по их микрофотографиям. После аппроксимации кинетических кривых экспоненциальными зависимостями рассчитывали коэффициенты осмотической водной проницаемости (P_{os}) везикулярных мембран и плазмалеммы протопластов на основании полученных констант скорости. Далее путем обработки везикул и протопластов метил- β -циклодекстрином (MBCD) исследовали, влияет ли экстракция стерина из плазмалеммы на их осмотическую водную проницаемость и размеры исследуемых объектов.

Было обнаружено, что при добавлении MBCD к суспензии везикул плазмалеммы их размеры не изменялись, в то время как величина P_{os} возрастала. Обработка же протопластов MBCD приводила к увеличению их объема и падению величины P_{os} . Следует отметить, что снижение содержания стерина в плазмалемме сопровождалось уменьшением варибельности значений P_{os} для индивидуальных протопластов. Можно заключить, что для везикулярных мембран и плазмалеммы протопластов характерны разные механизмы регуляции стеринами осмотической водной проницаемости. Обсуждаются другие возможные механизмы модуляции стеринами PIP-аквапоринов в протопластах, которые вероятно нарушаются при получении плазмалеммы.

К ВОПРОСУ ОБ ИЗУЧЕННОСТИ МХОВ ПРАВОБЕРЕЖЬЯ ОКСКОГО БАССЕЙНА

Т. А. Ларина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Larina23-02@yandex.ru

В связи с интенсивной хозяйственной деятельностью человека особый интерес представляют вопросы изучения флор территорий, располагающихся в непосредственной близости от крупных городов и агломераций. Вместе с тем наряду с изучением сосудистых растений, необходимо проведение инвентаризации мохообразных как наименее изученной группы растительных организмов. Правобережье Окского бассейна является интересной территорией для проведения флористических исследований. Наличие выходов известняков и доломитов на данной территории обуславливает произрастание многих южных и западных видов, определяя северную границу их ареалов.

В связи с этим было проведено исследование на территории Богородского района Нижегородской области по окским склонам у с. Дуденево и д. Хабарское. Исследование проводилось в августе 2014 г. маршрутно-рекогносцировочным методом, было собрано около 200 экземпляров мохообразных. В результате определения было выявлено 28 видов мохообразных. Для данной территории имеются и более ранние сборы. На данный момент в гербарии ННГУ имеются образцы, собранные на территории современного Богородского района, близ с. Дуденево, датирующиеся 1894 г. Они принадлежат И. М. Швецову. По его сборам на территории исследования известно 44 вида мохообразных. Так же свой вклад в изучение окского правобережья внес Ю. Н. Воробьев, в его конспекте флоры «Мохообразные Горьковской области» (1983) насчитывается 22 вида мохообразных, найденных на исследуемой территории.

Интересно, что видовой состав, обнаруженный при исследовании территории, сильно отличается от указанных ранее. Так, из ранее указанных Швецовым видов было обнаружено всего 10, из указанных Воробьевым – всего 3. В основном это виды, произрастающие на стволах деревьев, колоднике, а также нарушенных почвах. Из типично лесных видов, преимущественно произрастающих на почве, ранее указанных коллекторами, не сохранилось ни одного. Также не обнаружилось видов, приуроченных к известковым обнажениям и карбонатным почвам. В основном все обнаруженные при исследовании виды были типичными эпиксилами и эпифитами, однако эти находки связаны в первую очередь с тем, что ранее эти виды не выделялись и идентифицировать ранние сборы не удалось, а также *Riccia cavernosa*, отмеченная для области впервые и обнаруженная на довольно нарушенном участке почвы у старицы Оки.

Скромный флористический состав, выявленный при изучении данной территории, связан с влиянием антропогенного фактора, в первую очередь низовых пожаров, возникающих на данной территории из-за поджогов остепненных лугов, примыкающих к исследуемой территории. Разрушительное влияние пожаров отчетливо прослеживается в отсутствии типичных для данных местообитаний видов лесных эпигеев. Восстановление данных видов затрудняется и тем обстоятельством, что мохообразным довольно сложно конкурировать с сосудистыми растениями, активно захватывающим освободившиеся в результате пожара территории. Особенно досадно исчезновение редких видов, таких как *Bryoerythrophyllum recurvirostre*, *Pohlia annotina*, *Plagiomnium rostratum* и *Anomodon longifolius*, обнаруженных Швецовым, а также *Didymodon ferrugineus*, известного для области только на этой территории по сборам Воробьева. Для восстановления бриофлоры территории в целом, а также редких видов, рекомендуется снизить антропогенную нагрузку посредством контроля весенних поджогов луговых сообществ.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ БЛУЖДАЮЩЕГО НЕРВА НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ С ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ

Т. Х. Латыпов¹, Э. Ф. Фатыхова², С. Г. Розенталь¹, В. С. Филатов²

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *tim_latyov@icloud.com*

²Детская республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан, 420138, Казань, ул. Эсперанто, 8

Целью работы явилось изучение влияния эффектов электростимуляции *n. vagus* (VNS) на когнитивные функции пациентов детского возраста с диагнозом фармакорезистентная эпилепсия. Ведущая роль в нарушении адаптации пациента в обществе при эпилепсии принадлежит когнитивным расстройствам. К наиболее распространенным когнитивным расстройствам относятся нарушения памяти, замедление интеллектуального развития, дефицит внимания. Исследования хронических эффектов VNS дают неоднозначные доказательства его влияния на память и эмоциональное состояние, причем как с улучшением этих процессов, так и без изменений. Интерес представляет влияние VNS и на интеллект, речь, а также сенсомоторные характеристики пациентов. Предполагается, что эффект от VNS терапии будет более выражен у пациентов детского возраста.

Обследованы 3 пациента (2 мальчика и девочка) с фармакорезистентной формой эпилепсии в возрасте от 7 до 14 лет, с установленным VNS стимулятором. Обследование проводилось до установки VNS стимулятора и через 4 месяца после и заключалось в оценке когнитивных функций: памяти (память на образы, память на числа (компьютерный комплекс НС «Психотест»), модифицированный вариант методики Леонтьева А.Н.), вербального интеллекта (детский вариант Векслера), распознавания эмоциональных состояний (Фатыхова, Харисова, 2011, шкала эмоциональной возбудимости НС «Психотест»), речи (Нурминский, Безрукова, Каленкова, 2012). Методики использовались с учетом возраста пациентов, в ряде случаев проводили опрос родителей.

Тестирование памяти показало, что у детей дошкольного возраста происходило улучшение показателей опосредованного запоминания через 4 месяца после установки VNS стимулятора. Изменений со стороны кратковременной памяти, ее объема и точности не были выявлены ни у дошкольников, ни у детей школьного возраста. Увеличение значений вербального интеллекта через 4 месяца, как для детей дошкольного, так и для детей школьного возраста, свидетельствует об улучшении интеллектуального развития детей после VNS. При первом обследовании были получены высокие значения у детей и дошкольного и школьного возраста по шкале эмоциональной возбудимости, низкие адаптационные возможности психологической сферы: высокий уровень предрасположенности испытывать выраженные негативные эмоции в ответ на воздействие неблагоприятных факторов. Отмечалась низкая стрессоустойчивость, высокий риск возникновения невроза. Данные особенности эмоциональной сферы сохранялись у детей и после 4 месяцев применения VNS. Диагностика речи показала незначительное улучшение или отсутствие изменений через 4 месяцев применения VNS в психологической базе речи детей: вербальной памяти, мышлении и речевом внимании. Результаты опросника речи показали улучшение импрессивной речи у детей дошкольного возраста и экспрессивной речи у детей школьного возраста по сравнению с данными до установки стимулятора. Предполагается, что благоприятные эффекты VNS на эмоциональное и когнитивное состояние возникают из-за повышения уровня секреции норадреналина.

Таким образом, у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией после установки VNS стимулятора мы наблюдаем положительную динамику процессов памяти, вербального интеллекта и речи. Дальнейшее наблюдение за пациентами позволит получить более полную картину изменений когнитивных функций.

ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА И ЗООТОКСИНОВ НА ЭРИТРОЦИТАРНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПЕРТЕРМИИ

Д. Д. Линькова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
linckovadaria@yandex.ru

На кафедре физиологии и анатомии ННГУ ведутся активные исследования термопротекторных свойств зоотоксинов. В экспериментах на лабораторных животных показано увеличение продолжительности жизни при предварительном введении зоотоксинов по сравнению с использованием только высокой внешней температуры. Не менее актуальной является проблема использования общей и местной гипертермии в онкологической практике. Однако многие стороны влияния гипертермии еще не выяснены. Цель работы связана с выяснением роли эритроцитов крови в механизме термопротекторного действия зоотоксинов.

Ранее исследованиями, проведенными на кафедре, было установлено, что в условиях высокой внешней температуры (+50°C) продолжительность жизни крыс составляет 43,0±4,6 мин. Для оценки эритроцитарного профиля крови время тепловой экспозиции было снижено до 30 мин. В контрольных опытах с внутривенным введением физиологического раствора при нормотермии (+20°C) количество эритроцитов составляло 7,8±0,6·10¹²/л. При температурной экспозиции количество эритроцитов снижается на 20–25%, а в течение 1 часа после гипертермии наблюдается гибель животных.

При внутривенном введении пчелиного яда в дозе 2 мг/кг в условиях нормотермии количество эритроцитов увеличивается относительно контроля на 10%, инъекция яда эфы (6 мг/кг) дает увеличение на 10%, яда щитомордника – на 15%. Максимальное увеличение количества эритроцитов наблюдается на 30 мин. тепловой экспозиции и составляет 12,8±0,8·10¹²/л. В постгипертермический период (+20°C) показатели эритроцитарного профиля при введении пчелиного яда и яда эфы не отличаются от контрольных величин, а при введении яда щитомордника регистрируется постепенное снижение количества эритроцитов до контрольных показателей через 24 часа после тепловой экспозиции.

Одновременно с увеличением зрелых форм эритроцитов при остром перегревании в кровеносное русло поступает большое количество незрелых форм – ретикулоцитов. Так в условиях нормотермии количество ретикулоцитов в контроле составляло 41,0±3,2‰, а в условиях гипертермии – 73,2±5,5‰. При введении пчелиного яда при нормотермии уровень ретикулоцитоза увеличивался на 92,7% относительно контрольных величин, при инъекции яда щитомордника количество ретикулоцитов увеличивалось на 188%. На 30 мин. острого перегревания количество ретикулоцитов при введении пчелиного яда составляло 147%, а при введении яда щитомордника – 175% относительно контроля, где вводился физиологический раствор в том же объеме, что и зоотоксины. В постгипертермическом периоде ретикулоцитоз сохранялся даже через сутки после тепловой экспозиции, в отличие от эритроцитоза, который в течение 24 часов возвращался к контрольным величинам. При введении яда эфы ретикулоцитоза не наблюдали ни при нормотермии, ни при гипертермии, ни в постгипертермический период.

Ранее на кафедре физиологии и анатомии было установлено, что максимальная продолжительность жизни крыс в условиях острого перегревания (+50°C) регистрируется при предварительном введении яда щитомордника, отличаясь от контроля в 5 раз. В наших экспериментах показано, что максимальный эритро- и ретикулоцитоз также характерен для яда щитомордника. Один из возможных механизмов термопротекторного действия зоотоксинов заключается в увеличении кислородной емкости крови за счет увеличения количества эритроцитов и ретикулоцитов. В условиях гипертермии в контрольных опытах наблюдается снижение количества эритроцитов, возможно за счет гемолиза эритроцитов диаметром 6,9–8,0 мкм, т.е. кривая Прайс-Джонса сдвигается в сторону микроцитоза. Яд щитомордника как в условиях нормотермии, так и при гипертермии стабилизирует диаметр эритроцитов до нормоцитоза.

ВЛИЯНИЕ ЭПИНА И ПИРАБАКТИНА НА УРОЖАЙНОСТЬ ПШЕНИЦЫ И ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЙ ВЛАЖНОСТИ И Пониженной Температуры

А. А. Лусина¹, Ю. В. Синицына¹, Е. К. Крутова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anyuta.lisina2011@yandex.ru

²Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107,
Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

Фитогормоны – регуляторы роста и развития растений используются в практике сельского хозяйства для повышения устойчивости, а, следовательно, и урожайности растений. Основным действующим веществом Эпина является эпибрассинолид, представитель брассиностероидов; пирабактин (ПБ) – функциональный аналог абсцизовой кислоты. Оба фитогормона могут участвовать в защите растений от засухи, поскольку они регулируют работу устьичного аппарата, а именно уменьшают потерю воды при засухе. Эпин и ПБ как регуляторы водного обмена используются для повышения устойчивости растений при засухе. Можно предположить, что эти фитогормоны имеют более широкий спектр действия и повышают устойчивость растений не только в условиях нехватки воды, но и в условиях холодного влажного лета (повышенной влажности и пониженной температуры).

В связи с этим целью работы являлась проверка защитного действия фитогормонов в условиях высокой влажности и пониженной температуры.

Для этого были проведены полевые и лабораторные исследования. В полях были заложены делянки 200 м² с растениями гороха и пшеницы, на стадии вегетации проведена внекорневая обработка фитогормонами. Для растений пшеницы использовали Эпин в концентрациях 10⁻⁶М и 10⁻⁸М, ПБ в концентрациях 10⁻⁶М и 10⁻⁷М. А для растений гороха использовали Эпин в концентрациях 10⁻⁷ М и 10⁻⁹ М, ПБ в концентрациях 10⁻⁵М и 10⁻⁶ М. Исследованы показатели: хозяйственная и биологическая урожайность, масса 1000 зерен.

Для выяснения причин физиологических изменений, вызванных исследуемыми внешними погодными факторами, в лабораторных условиях были выращены растения гороха при температурах +20°C и +24°C, определено содержание продуктов перекисного окисления липидов и уровень выхода электролитов.

Выявлено увеличение хозяйственного урожая пшеницы при действии обоих фитогормонов, но для гороха изменений не обнаружено. Значения массы 1000 зерен под действием фитогормонов не менялись. Можно отметить тенденцию к увеличению биологического урожая гороха после обработки растений как Эпином, так и ПБ. В целом наибольший положительный эффект наблюдался при обработке пшеницы ПБ в концентрации 10⁻⁶ М, действие Эпина было более слабым.

Результаты лабораторных экспериментов показали повышение проводимости мембран у растений, выращенных при более холодной температуре (+20°C), при этом содержание диеновых конъюгатов и оснований Шиффа у двух экспериментальных групп не различалось.

Таким образом, повышение проводимости мембран в условиях холодного влажного лета может быть причиной снижения устойчивости, а следовательно, и урожайности сельскохозяйственных растений. Фитогормоны, стабилизирующие мембраны в этих условиях, могут обеспечивать повышение продуктивности растений. Полученные результаты позволяют предложить пирабактин в качестве такого защитного соединения.

РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ-КИНАЗ В АДАПТАЦИИ КЛЕТОК ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР ГИППОКАМПА К ДЕЙСТВИЮ ГИПОКСИИ *IN VITRO*

М. М. Логинова¹, Т. В. Шишкина¹, Т. А. Мищенко¹, М. В. Ведунова¹, Е. В. Митрошина^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
marialoginova98@gmail.com

²Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603950, ГСП-470, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

В настоящее время гипоксия рассматривается как одно из основных патогенетических звеньев при ишемическом повреждении клеток головного мозга. Показано, что нейротрофические факторы эффективно предотвращают гибель клеток при ишемическом воздействии. Один из них - глиальный нейротрофический фактор (GDNF). Однако детально молекулярные механизмы нейропротекторного действия GDNF до конца неизвестны. Лиганд-связывающий компонент GFR α и тирозинкиназа Ret образуют функциональный блок рецепторов для реализации биологического действия GDNF. Формируется комплекс GDNF/GFR α /Ret, который способствует активации нижестоящих сигнальных каскадов. Большой интерес представляет исследование роли киназ, входящих в данные метаболические каскады, в реализации эффектов нейротрофических факторов, обеспечивающих адаптацию нервных клеток к повреждающим воздействиям. Целью работы являлось выявление роли ключевых киназ в адаптации нервных клеток к действию гипоксии и в реализации различных типов клеточной смерти (апоптоз/некроз), индуцируемого моделируемым стресс-фактором.

Объектом исследования явились первичные культуры клеток гиппокампа мыши. Моделирование острой гипоксии *in vitro* выполнялось на 14 день культивирования первичных культур. Оценка жизнеспособности первичных культур выполнялась с помощью окрашивания бис-бензимидамидом и пропидий иодидом. Дифференциальное маркирование апоптоза и некроза проводилась с помощью окрашивания аннексином V и пропидий иодидом.

На первом этапе работы была проведена оценка роли ключевых киназ RET и АКТ в устойчивости первичных культур нейронов гиппокампа к действию гипоксии. Показано, что аппликация ингибиторов RET и АКТ киназ не вызывает достоверных изменений жизнеспособности в течение 7 дней в нормальных условиях. При гипоксии блокада RET киназы резко снизила число живых клеток, которое составило $30 \pm 1,96\%$, блокада же АКТ киназы ($70 \pm 0,3,61\%$) не выявила различия с контрольной группой ($78 \pm 5,23\%$).

На втором этапе исследования было проведено исследование роли ключевых киназ RET и АКТ в реализации действия GDNF при моделировании гипоксии. Показано, что гипоксия вызывает достоверное увеличение числа мертвых клеток уже на следующие сутки. В контрольной группе (гипоксия) число живых клеток составило $78 \pm 5,23\%$, а в интактной $94 \pm 2,34\%$. Показано, что GDNF (1нг/мл) защищает клетки от негативного действия гипоксии, жизнеспособность данной культуры группы составила $88 \pm 0,34\%$, что не сильно отличается от показателей интактной группы. Ингибирование RET киназы полностью блокирует нейропротекторный эффект GDNF, количество живых клеток в этой группе $28 \pm 1,57\%$. Также проведена оценка типов клеточной смерти при моделировании гипоксии и блокаде RET и АКТ киназ.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 18-015-00391а, № 17-04-01128а) и гранта Президента РФ МД-2634.2017.4.

**ОЦЕНКА ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ,
НАХОДЯЩИХСЯ НА РАЗЛИЧНОМ УДАЛЕНИИ ОТ ИЗЛУЧАТЕЛЯ
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ
РАДИОЧАСТОТНОГО ДИАПАЗОНА**

Н. В. Лопаткина, В. В. Баркин, Е. П. Лобкаева

Российский федеральный ядерный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики, 607188, Нижегородская обл., Саров, просп. Мира, 37

В настоящее время электромагнитные поля (ЭМП) занимают одно из ведущих мест по своей экологической значимости. Особое внимание исследователей приковано к вопросу изучения опасности для здоровья человека низкоинтенсивного электромагнитного поля радиочастотного диапазона, источниками которого являются устройства обеспечения Интернета, бытовая техника, мобильные телефоны и базовые станции. Одним из аспектов при оценке вреда производственного фактора физической природы является исследование откликов биообъектов при различной интенсивности или на различном удалении от источника воздействия. В настоящей работе представлены результаты исследования влияния низкоинтенсивного электромагнитного поля радиочастотного диапазона на поведение крыс, находящихся на различном удалении от антенны.

В качестве воздействующего фактора использовали модулированное электромагнитное поле частотой 1 ГГц. Среднее значение плотности потока энергии (ППЭ) 19,0–2,8 мкВт/см². Источником ЭМИ являлась лабораторная радиотехническая система с антенной рупорного типа. Биологические эффекты оценивали по поведению животных в тесте «открытом поле» и устойчивости к динамическим нагрузкам в тесте «вращающийся стержень».

Установили, у животных, находившихся на большем удалении от антенн 5,8 и 15,0 м при меньшем уровне интенсивности 19,0 и 2,8 мкВт/см², соответственно, в структуре поведения обнаруживались более выраженные изменения по сравнению с особями, располагавшимися на небольшом удалении (2,5 м) при более высоком уровне ППЭ (85,0 мкВт/см²). Данное наблюдение согласуется с выводами Ю.Г. Григорьева относительно того, что влияние модуляции электромагнитного поля радиочастотного диапазона более выражено при более низких уровнях интенсивности. Полученные данные могут быть использованы при корректировке подходов к нормированию ЭМП на производстве и в быту, а также изменению принципов защиты расстоянием.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ОТВЕТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ХИМИОТЕРАПИЮ

М. М. Лукина^{1, 2}, В. В. Дуденкова^{1, 2}, Л. Е. Шимолина^{1, 2}, Н. В. Игнатова¹, И. Н. Дружкова¹,
Н. П. Павлова^{1, 2}, М. В. Ширманова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; kuznetsova.m.m@yandex.ru

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Паклитаксел (Таксол) – широко используемый химиопрепарат, действие которого направлено на клеточный цитоскелет и влияет, преимущественно, на активно делящиеся клетки, тогда как покоящиеся клетки могут быть резистентными к лечению. В связи с этим, актуальной проблемой является поиск прогностических факторов ответа опухолевых клеток на лечение. Одним из таких критериев может выступать энергетический метаболизм клетки, который может быть охарактеризован на основе регистрации эндогенной флуоресценции метаболических кофакторов НАД(Ф)Н и ФАД. НАД(Ф)Н и ФАД выступают главными переносчиками электронов в реакциях энергетического метаболизма. Целью данной работы было исследование метаболического ответа опухолевых клеток HeLa Kyoto на химиотерапию паклитакселом с помощью флуоресцентной микроскопии с временным разрешением (FLIM) в условиях 2D и 3D культивирования.

Работа проводилась на опухолевой клеточной линии HeLa Kyoto (рак шейки матки человека) в виде монослойной культуры и опухолевых сфероидов. FLIM имиджинг осуществляли на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) с FLIM приставкой (Becker & Hickel GmbH, Германия) до и после добавления паклитаксела в среду культивирования в динамике.

В результате исследования было установлено изменение метаболического статуса опухолевых клеток в процессе химиотерапии в условиях 2D и 3D культивирования. Было продемонстрировано, что опухолевый ответ на лечение гетерогенен, как в условиях монослоя, так и в многоклеточных опухолевых сфероидах. Изменение метаболического статуса предшествовало морфологическим проявлениям клеточной гибели. На клеточной линии было показано выраженное увеличение отношений интенсивности флуоресценции ФАД/НАД(Ф)Н (редокс-отношение), а также снижение процентного вклада свободного НАД(Ф)Н в затухание флуоресценции (a_1 %) через 6 часов после добавления химиопрепарата.

Под действием паклитаксела на опухолевые клетки сфероида было продемонстрировано резкое увеличение отношений интенсивности флуоресценции ФАД/НАД(Ф)Н спустя 6 часов после добавления препарата. В клетках периферии сфероида после 48 часов воздействия паклитаксела резко снизился процентный вклад свободного НАД(Ф)Н. Тогда как в клетках центральной зоны – статистически значимо вырос по сравнению с контролем через 24 часа после добавления препарата.

Таким образом в результате работы было установлено, что анализ энергетического метаболизма является ценным подходом к характеристике ответа опухолевых клеток на лечение и, следовательно, может быть использован в качестве прогностического критерия раннего ответа опухолевых клеток на лечение.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 14-25-00129.

ИЗУЧЕНИЕ РОСТОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ АКТИНОБАКТЕРИЙ *BREVIBACTERIUM* SP. НА РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ СОРТА ЖУКОВСКИЙ РАННИЙ

М. Т. Лутфуллин¹, Г. Ф. Хадиева¹, А. В. Малова¹, С. Г. Вологин², З. Сташевски²,
А. М. Марданова¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлёвская, 18;
lutfullin.marat2012@yandex.ru

²Татарский НИИ сельского хозяйства, 420059, Казань, ул. Оренбургский тракт, 48

Актинобактерии вызывают большой интерес в связи с широким потенциалом практического применения в сельском хозяйстве. В настоящее время ростостимулирующие характеристики актинобактерий изучены недостаточно, несмотря на присутствие доминирующего количества представителей фило Actinobacteria в ризосфере. Прямые механизмы стимуляции включают производство жизненно важных факторов роста растений, таких как гормоны роста, фиксация азота и солюбилизация фосфатов. Актинобактерии также косвенно влияют на рост растений, контролируя и минимизируя стрессовые биотические и абиотические факторы окружающей среды. Цель работы – изучить ростостимулирующую активность штамма *Brevibacterium* sp., выделенного из ризосферы картофеля.

Бактерии культивировали на среде LB при +30°C при 200 об./мин в течение 72 часов. Способность бактерий к продукции ауксина – индоллил-3-уксусной кислоты (ИУК) определяли по методу, описанному в работе Gordon, 1951. Исследования проводились на экспериментальных полях ТатНИИСХ «НИВА» (Республика Татарстан, Лаишевский район, село Большие Кабаны; координаты точки отбора – 55°38'60" с.ш. и 49°18'25" в.д.). В работе использовали клубни картофеля сорта Жуковский ранний в количестве по 44 клубня в 5 повторностях для контрольной и опытных вариантов. Клубни перед посадкой обрабатывали суспензией *Brevibacterium* sp. в концентрации $1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл. с помощью пульверизатора и сушили в течение 60 мин. На 30 сутки проводили измерение следующих биометрических показателей.

Из ризосферы картофеля нами выделен галотолерантный неподвижный аэробный штамм бактерий с грамположительным морфотипом. Анализ последовательности гена 16S рРНК показал, что выделенные бактерии относятся к порядку Actinomycetales, род *Brevibacterium* (96% гомологии). Выделенный изолят обозначен как *Brevibacterium* sp. MG-1. На 72 ч роста в среде культивирования MG-1, содержащей 500 мкг/мл L-триптофана, уровень ИУК достигал 28,65 мкг/мл соответственно, что свидетельствовало об индукции синтеза ИУК. Инокуляция клубней картофеля бактериальной суспензией оказывала стимулирующий эффект на рост и развитие картофеля. Количество стеблей картофеля в опытных делянках было на 11,94% больше относительно растений контрольной делянки, но средняя длина стеблей была ниже в опытной делянке на 3,46%. Количество сложных листьев было больше в кустах картофеля опытного варианта на 4,78%, простых – на 34,91%. Площадь листовой поверхности одного растения опытного варианта превышала площадь поверхности контрольного растения на 25,96%.

Таким образом, инокуляция клубней картофеля суспензией *Brevibacterium* sp. в период закладки позитивно влияет на дальнейший рост растений картофеля сорта Жуковский ранний в период всей вегетации, что может быть обусловлено высокой продукцией ИУК. Актинобактерии *Brevibacterium* sp. MG-1 могут использоваться в качестве биопрепарата для повышения урожайности сельскохозяйственных растений.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров, государственного задания ФАНО России 0745-2014-0026, а также при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 17-44-160481.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭЛЕКТРОТЕРАПИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ НЕВРОЛОГИИ

Т. В. Львутина, Д. С. Мартынов, Е. Н. Викулов

Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева,
603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24; *tat.lvutina@mail.ru*

Использование методов лечения электрическим током малой мощности получило широкое распространение как в рефлексотерапии, так и в неврологии, спортивной медицине, косметологии и других областях клинической медицины. Анализ результативности оказываемого лечебного электрического воздействия важен в первую очередь в виду наличия ряда противопоказаний к такому методу лечения. Использование методов машинной обработки данных позволяет автоматизировать процесс оказания лечебного электротерапевтического воздействия и выполнять анализ изменений в состоянии здоровья пациента.

Цель работы – разработать и апробировать программное обеспечение, позволяющее выполнять автоматизированную когнитивную обработку данных изменения состояния здоровья пациента, выработать рекомендации по методам и средствам проведения электротерапии, в том числе, и для электронейростимуляции.

Проведено исследование методом многомодального нейромониторинга, применяемого в отечественной клинической неврологии, в том числе системы «Центавр», разработанной коллективом кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Нижегородской государственной медицинской академии (НижГМА). Проанализирована работа научного коллектива неврологического отделения Нижегородской областной клинической больницы им. Н.А. Семашко и НижГМА, направленная на использование в клинической практике электронейростимуляторов для лечения последствий инсульта, тяжелой сочетательной черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Исследована возможность использования методики анализа вариабельности сердечного ритма, предложенная Вдовиной Н.В., для анализа состояния здоровья пациента неврологического отделения. Регистрация ритмограммы проводилась при помощи фотометрического датчика интенсивности кровотока, присоединенного к микроконтроллерной платформе Arduino Nano (ATMega 328P). Выполнялась программная обработка данных 100 R-R интервалов – формирование «раскрашенного забора». Частота дискретизации данных интенсивности кровотока была выбрана равной 300 Гц.

Разработана модель обработки данных следящего многомодального нейромониторинга, предназначенного для анализа данных изменения состояния пациента, выработаны рекомендации по разработке модели, позволяющей анализировать состояния пациента в домашних условиях, вне стационара. Выполнена работа по проектированию и разработке необходимого программного обеспечения и миниатюрного электронейростимулятора, проведен сравнительный анализ результативности применения нейростимулятора в сравнении с функционально близкими аналогами. Выбраны модели и методы формирования импульсных последовательностей, наиболее близких в биорезонансным частотам человеческого организма. Апробировано использование электронейростимулятора, при расположении электродов в зонах проекции биологически активных точек (БАТ) и нервных узлов.

Предлагаемый подход к использованию электронейростимуляции и анализа данных об изменении параметров состояния здоровья может быть полезен не только в клинической практике, но и при организации удаленного информационного сопровождения процесса оказания медицинской помощи (телемедицине). Использование методов машинной обработки данных позволяет обрабатывать биометрические данные как в режиме реального времени, так и проводить анализ накопленных данных.

ВЫДЕЛЕНИЕ ГРИБОВ-ЭНДОФИТОВ БРУСНИКИ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК, ВАЖНЫХ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ ВЕРЕСКОВЫХ

А. А. Ляхова, И. В. Стручкова, А. В. Юдинцев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anastasyalyakhova@yandex.ru

Брусника обыкновенная *Vaccinium vitis-idaea* – растение семейства вересковых (Ericaceae), ценное своими пищевыми и лекарственными свойствами. Для полноценного роста и развития брусники обязательно ее взаимодействие со специфическими эндофитными грибами-корнеобитателями. Искусственное заселение брусники такими видами становится необходимо при получении посадочного материала методами микроклонального размножения (микрорастения лишены микосимбионтов из-за технологических особенностей их получения), при восстановлении брусничников после пожаров, а также при закладке и поддержании плантаций ягодников на площадях, исходно бедных необходимыми вересковым грибными видами. Для искусственного заселения наиболее подходят грибы-эндофиты, обладающие ростостимулирующим действием на растения и способные развиваться и наращивать биомассу на питательных средах в лабораторных условиях.

Целью настоящего исследования являлось изучение ростовых характеристик и ауксинпродуцирующей способности комплекса изолятов эндофитных грибов, выделенных из корней растений брусники, произрастающих в Нижегородской области.

Наличие грибов-эндофитов в корнях растений подтверждали методом флуоресцентной микроскопии препаратов, окрашенных трипановым синим. В клетках корней брусники, собранной как в июне, так и в июле 2017 года, были обнаружены грибные гифы, причем у брусники, собранной в июле, заселение клеток корней гифами грибов было обильнее. После поверхностной стерилизации корней эндофитные грибы выделяли, используя питательную среду Чапека-Докса и Мелина-Норканса, а также картофельно-декстрозный агар. Также выделенные грибы-эндофиты культивировали на жидкой среде Чапека-Докса. Установлено, что стабильное культивирование на данных средах возможно для двух морфологически разных изолятов грибов-эндофитов брусники – с темноокрашенным септированным мицелием и с септированным светлым мицелием. Максимальная скорость роста изолятов наблюдалась при культивировании на картофельно-декстрозном агаре (1,13 мм/день), что на 4% превышает скорость роста на среде Чапека-Докса и на 19% – на среде Мелина-Норканса.

Исследование ауксинпродуцирующей способности выделенных изолятов проводили для двухнедельных культур, при их жидкофазном культивировании в темноте, в присутствии предшественника индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) – триптофана (концентрация в среде 5 мМ) и без него. После экстракции из культуральной жидкости этилацетатом и тонкослойной хроматографии ИУК и родственные соединения определяли по окрашиванию реактивом Сальковского. Результаты исследования показали, что способность синтезировать ИУК у выделенных эндофитных грибов наблюдается только при наличии триптофана – предшественника ИУК. В природных условиях, вероятно, эта аминокислота может поступать к грибу из корней растения-хозяина (брусники).

Таким образом, нами выделены и поддерживаются изоляты грибов-эндофитов, для наращивания биомассы которых в целях искусственного инокулирования следует использовать питательную среду Чапека-Докса или картофельно-декстрозный агар. Эти изоляты способны продуцировать ИУК, однако требуют для этого процесса наличия триптофана в качестве предшественника. Полученные результаты могут быть полезны при разработке технологии искусственного заселения эндофитными грибами растений брусники обыкновенной.

РАЗНООБРАЗИЕ ЛИШАЙНИКОВ РОДА *CLADONIA* В ОКРЕСТНОСТЯХ РУБСКОГО ОЗЕРА (ИВАНОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

А. Д. Макарова, Л. Ю. Минеева

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;
mackarowa.aleona@yandex.ru

В настоящее время известно более 20000 видов лишайников и среди этого разнообразия особый интерес представляет изучение такого семейства, как кладониевые (*Cladoniaceae*). К этому семейству принадлежит большой и широкоизвестный род *Cladonia*. Этот род характеризуется разделением слоевища на две части – первичное и вторичное слоевище. Первичное слоевище состоит из чешуек и из него вырастает вторичное вертикальное слоевище – подеции, которые бывают очень разнообразной формы. Их высота у большинства видов 2–8 см. Подеции зачастую покрыты чешуйками – филлокладиями, которые увеличивают их ассимиляционную поверхность. Лишайники этого рода содержат множество различных лишайниковых веществ. Биологическая роль лишайниковых веществ многофункциональна: некоторые обладают ярко выраженной антибиотической активностью и защищают лишайники от воздействия бактерий, подавляют рост мхов и грибов, всхожесть семян высших растений.

Исследованием видового состава лишайников на территории Ивановской области занималась Н. В. Малышева. Ею было выявлено 149 видов лишайников. И до сих пор ее работы являются самым полным описанием лишайников Ивановской области. Кроме нее изучением лишайников занимаются студенты и преподаватели ИвГУ. В 2006 г. видовое разнообразие рода *Cladonia* в окрестностях Рубского озера описали Л. Ю. Минеева и И. Б. Хитерман.

Озеро Рубское расположено в Тейковском районе Ивановской области, в 40 км юго-западнее г. Иванова. Рубское озеро и прилегающие к нему участки являются особо охраняемой природной территорией регионального значения, с ней граничит охранный зона. Поэтому здесь очень важно изучать разнообразие организмов.

Сбор материала происходил в июне-июле 2013–2017 гг. маршрутным методом. Исследовались различные биотопы (территории спортивно-оздоровительных лагерей, торфяные карьеры, разрабатываемые песчаные карьеры, заброшенные песчаные карьеры, смешанный лес, липовый и березовые леса, обочины дорог, верховое болото).

В результате было выявлено 23 вида *Cladonia*. Три вида (*C. crispate*, *C. foliaceae*, *C. digitata*), найденные Л. Ю. Минеевой и И. Б. Хитерман в 2004–2005 гг. обнаружены не были, но были отмечены 10 новых видов, которые не упоминались в статье.

По приуроченности к субстрату 44% видов относятся к эпигейным, 4% – к эпиксильным, остальные могут существовать на различных субстратах эпигейный/эпиксильный – 48%, эпигейные/эпиксильный/эпифитный – 4%.

Также у найденных видов были отмечены особенности строения вторичного слоевища. Для одного вида – *C. symphyocarpa* – характерно отсутствие подециев. Для большинства остальных видов характерны сцифорасширенные подеции (32%). Характерны также шиловидные (27%), разветвленные (23%) и палочковидные (14%) структуры подециев. Роговидный тип представлен у 4% видов.

**ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ФОРМ КРЕМНИЙ-СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА
ОСНОВЕ НАНОГИДРОКСИАПАТИТОВ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ *SOLANUM TUBEROSUM* ПРИ
КУЛЬТИВИРОВАНИИ *IN VITRO***

А. Е. Макарова, Е. О. Половинкина, Л. А. Крюков

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alena.makarova.95@mail.ru,

Оптимизация питания растений, позволяющая преодолеть или уменьшить негативное влияние стрессовых и неблагоприятных биотических и абиотических факторов среды. Кремний занимает второе место в земной коре и почве среди элементов по распространенности. Однако основная его часть является недоступной растению, так как находится в нерастворимом виде. Поэтому важной задачей является поиск оптимальных форм соединений, где кремний может быть максимально доступен для ассимиляции растением.

Объектом настоящего исследования является *Solanum tuberosum* сорта *Vitelotte* из коллекции Ботанического сада ННГУ. Картофель является важнейшей продовольственной, технической и кормовой культурой, входит в число главных продовольственных культур планеты, а также является удобным объектом, обладающим интенсивным ростом.

В работе использовалась базовая питательная среда Murashige & Skoog (1962). В качестве источника кремния выступали метасиликат натрия (Na_2SiO_3) в концентрациях 5 мг/л, 10 мг/л, 15 мг/л, и гидроксиапатит кальция (ГАП) с различным молярным содержанием кремния: ГАП 5 (4,42) в концентрации 12,7; 25,5 и 38,2 мг/л; ГАП 10 (4,93) в концентрации 5,7; 11,4 и 17,11 мг/л; ГАП 15 (4,92) в концентрации 3,8; 7,6 и 11,41 мг/л. Контролем являлись растения, выращенные на стандартной питательной среде Murashige & Skoog.

Опыт проводился в 3 повторностях, анализу подвергались по 20 растений для каждого варианта. Растения культивировались на искусственной агаризированной питательной среде с 16-ти часовым фотопериодом, освещением 3500 люкс и влажностью воздуха 70-80% при температуре 21°C. Питательную среду стерилизовали в автоклаве при температуре 120°C и давлении 1 атм. в течение 20 минут. Разрушающиеся при высокой температуре вещества, входящие в состав среды, стерилизовали, пропуская через бактериальные мембранные фильтры, размер пор 0,22 мкм. Затем среда разливалась в пробирки объемом 50 мл по 15 мл в каждую пробирку. Значение рН до автоклавирования 5,8. Период проведения эксперимента 60 дней: с 17.04.2017 по 07.06.2017.

В результате было выявлено увеличение длины побега до 7,3% при добавлении Na_2SiO_3 (15 мг/л) и до 23% при добавлении ГАП (ГАП 5 (12,74 мг/л)). Увеличилось число образования вторичных побегов: до 88% с применением Na_2SiO_3 (10 мг/л) и до 130% с применением ГАП (ГАП 10 (11,4 мг/л)). Сырая масса: до 86,7 % с Na_2SiO_3 (5 мг/л и 15 мг/л) и до 180 % с ГАП (ГАП 5 (12,7 мг/л)). Добавление ГАП в питательную среду приводило к изменению пигментного состава фотосинтетического аппарата в сторону увеличения содержания хлорофилла а.

Таким образом, применение кремний-содержащих ГАП приводило к увеличению морфометрических показателей, вероятно вследствие увеличения продуктивности фотосинтеза в результате перестройки фотосинтетического аппарата. Наиболее эффективным составом является кремнийсодержащий ГАП 5.

СИНХРОНИЗАЦИЯ В МНОГОСЛОЙНЫХ СТРУКТУРАХ НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ СЕТЕЙ

С. Ю. Маковкин, М. В. Иванченко, А. А. Заикин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
makovkin@neuro.nnov.ru

В работе рассматривается модель двух связанных сетей активных элементов с разной топологией и исследуются эффекты синхронизации.

Возьмем сеть из осцилляторов, состоящую из двух слоев. Один слой представляется собой ансамбль глиальных клеток – астроцитов, другой слой состоит из нейрональных клеток. Пусть эти сети будут одного размера $N \times N$ и располагаются один над другим. Глиальный слой состоит из упорядоченных элементов (нодов), связанных между собой решеткой, т.е. каждый элемент имеет связь с четырьмя своими соседями (внизу, справа, сверху, слева). Кроме того, каждый из элементов глиального слоя вместе с каждым из своих четырех соседей связаны с соответствующим элементом из нейрональной сети. Нейронный слой имеет такую же структуру и размеры как глиальный слой, но нейроны в нем связаны друг с другом случайно. Случайная связь имеет распределение случайного графа по методу Эрдеше-Реньи. Динамика эволюции такой системы описывается классической системой фазового представления Курамото. Глобальный уровень связи в сети будем считать как параметр «порядок связи Курамото g ».

Рассмотрим первый случай, когда нейронный и глиальный слои не связаны. Основные результаты сформулированы следующим образом. Глобальный уровень связи в сети нейронов не зависит от размера системы и имеет поведение явно схожее с классической системой Курамото (связь «все со всеми»). Динамика в периодической решетчатой структуре глиальной сети и уровень синхронизации сильно зависят от размеров системы: параметр r_{glial} падает при увеличении размеров системы. В пределе при $N \rightarrow \infty$ параметр $r_{\text{glial}} \rightarrow 0$, что согласуется с поведением одномерных цепочек (у них среднее поле отсутствует).

Рассмотрим второй случай с включенной связью между слоями и обсудим полученные результаты и эффекты в системе. Теперь будем учитывать влияние параметра σ_{GN} . Учитываем условие: $\sigma_{\text{G}} = \sigma_{\text{GN}}$. При любых значениях нейрональной силы связи явно виден эффект гашения синхронизации в районе значения $\sigma_{\text{G}} = \sigma_{\text{GN}} = 0,35$ для обоих слоев, глиального и нейронального. После этого значения происходит возобновление эффекта полной синхронизации.

Можно сформулировать следующие важные выводы: 1) среднее поле в ансамбле глии возникает из-за ансамбля нейронов; 2) наблюдается частичная десинхронизация в ансамбле нейронов и в ансамбле глии; 3) происходит резкий переход к синхронизации.

Работа выполнена при поддержке РФФ (соглашение № 16-12-00077).

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНГИБИТОРОВ УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА УРОВЕНЬ КОФИЛИНА В НЕРВНОЙ ТКАНИ

Н. С. Максимова¹, Т. Ф. Сергеева¹, И. Ю. Жуков¹, Е. В. Шурганова¹, И. В. Мухина^{1, 2},
М. Р. Гайнуллин^{1, 2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603950, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Кофилин – небольшой белок (~18,5 kDa) способный связываться с мономерным (G-актином) и фибриллярным актином (F-актином) и управлять процессами сборки/разборки актиновых филаментов. Актиновые микрофиламенты составляют основу цитоскелета, обеспечивая поддержание формы клетки, ее подвижность и возможность миграции. При изменении формы цитоскелета происходят взаимосвязанные этапы сборки/разборки актиновых нитей, управляемые кофилином, что влияет на различные внутриклеточные сигнальные пути как при физиологических условиях, так и при развитии патологии.

Ключевую роль в регуляции внутриклеточной концентрации многих белков, в том числе кофилина, играет убиквитин-протеасомальная система. Присоединение убиквитина является сигналом для направления белка для деградации на 26S-протеасому. Подавление активности протеасомы предотвращает селективный протеолиз, что может влиять на многие каскады реакций передачи сигнала в клетке и даже приводить к ее гибели. Это дает возможность использования ингибиторов протеасомы в клинической практике. На настоящий момент существуют препараты для лечения опухолевых заболеваний, действие которых основано на данном механизме - бортезомиб и карфилзомиб. Аналогом этих веществ, используемым в исследованиях *in vitro*, является пептид MG-132.

Стоит отметить, что молекулярный механизм воздействия ингибиторов протеасомы на метаболизм различных белков остается мало изучен. В связи с этим, целью работы явилось изучение влияния ингибитора протеасомы MG-132 на метаболизм кофилина в нервной ткани.

Для проведения исследований использовали клетки гиппокампа мышей линии C57BL/6. К исследуемым образцам добавляли ингибитор протеасомы MG-132 (1мкМ), в качестве контроля использовали ДМСО (0,5%). Инкубацию клеток с препаратами проводили в течение 2 часов при температуре +37°C. Для лизиса образцов использовали стандартный буфер RIPA. Анализ белков проводили с помощью Вестерн-блоттинга. Полученные результаты обрабатывались в программе «GelAnalyzer 2010a».

В результате экспериментов было установлено, что MG-132 снижает уровень мономерного кофилина и его среднемолекулярных форм в нервных клетках по сравнению с интактными, при этом не было выявлено статистически значимой разницы с контролем (ДМСО). MG-132, блокируя работу протеасомы, способствует увеличению уровня внутриклеточных белков, в физиологических условиях подлежащих утилизации. Следовательно, полученные данные свидетельствуют об активации альтернативного пути деградации кофилина в присутствии ингибитора протеасомы, что может быть связано с посттрансляционными модификациями кофилина, в частности, различными типами убиквитиновых цепей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-34-00690).

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В РАННИЙ ПОСТИШЕМИЧЕСКИЙ ПЕРИОД

А. Д. Малащук², П. А. Логинов¹, К. И. Самсонова¹, Н. А. Щелчкова^{1,2}, И. В. Мухина^{1,2}

¹Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Нижний Новгород, Россия, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

²Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alexlove084@gmail.com

Ишемический инсульт представляет собой заболевание с высокой степенью инвалидизации. Инсульт часто оставляет тяжелые последствия в виде двигательных, речевых, когнитивных и иных нарушений. Актуальной проблемой является поиск нейропротекторных соединений, способствующих восстановлению после инсульта. Цель работы – изучить влияние препарата Цераксон (Ferrer Internacional S.A., Испания) и агониста негематопозитической формы рецептора ЕроR (ЕроR-βсR) (ООО «Фармапарк», Россия) на поведение крыс в ранний постишемический период.

Локальная ишемия головного мозга (ИГМ) моделировалась на крысах-самцах Wstar путем одностороннего фотохимического тромбоза правого полушария головного мозга. Животные были разделены на 4 группы: интактные, группа с ИГМ (в/в физ. раствор через 1, 3, 6, 8, 12, 24 часа после ишемии), группа ИГМ с препаратом Цераксон (в/в 169 мкг/кг через 1, 3, 6, 8, 12, 24 часа после ишемии) и группа ИГМ с агонистом негематопозитической формы рецептора ЕроR (ЕроR-βсR) (в/в 50 мкг/кг, через 1, 3, 6, 8, 12, 24 часа после ишемии). На 4 сутки после ишемии проводили тестирование животных в тесте «Открытое поле» (горизонтальная двигательная активность, количество и длительность вертикальных стоек и актов груминга, оценка реакции замиранья), и закрепление условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ).

При оценке горизонтальной активности и актов груминга после моделирования ишемии достоверных различий между группами выявлено не было. ИГМ приводила к снижению количества вертикальных стоек во всех экспериментальных группах относительно интактных значений. Однако, в группе ИГМ с препаратом Цераксон количество стоек в 2 раза выше значений группы ИГМ, и в 3 раза - ИГМ с ЕроR-βсR. Длительность стоек в группе ИГМ (12,33±2,71 с.) и ИГМ с препаратом Цераксоном (18,83±2,9 с.) не отличалась от интактных показателей (16,20±2,94 с.), а в группе ИГМ с введением ЕроR-βсR наблюдалось значительное сокращение времени стоек (1,78±0,41 с.). Количество актов замиранья у животных после ишемии увеличилось в 2 раза относительно интактных показателей ((2,09±0,35) и (1,0±0,32)). Коррекция препаратом Цераксон приводила к снижению числа замираний (0,15±0,11). В группе ИГМ с ЕроR-βсR количество замираний достоверно превышало интактные значения (2,11±0,22), но не отличалось от группы ИГМ. Длительность замираний у животных возрастала после формирования ишемического очага (86,45±13,89 с) относительно интактных показателей (2,49±0,96 с.), курсовое применение нейропротекторов снижало время замиранья: Цераксон – 4,48±3,02 с., после введения ЕроR-βсR – 22,13±4,44 с. относительно контрольных показателей, однако не достигали интактных значений.

При оценке воспроизведения УРПИ отбирались животные, латентный период нахождения в светлом отсеке которых составлял 180 с, и фиксировалась повторяемость рефлекса через 24 часа после обучения. После локальной ишемии обнаружено снижение времени пребывания в светлом отсеке в группе ИГМ на 59%, в группе ИГМ с коррекцией Цераксоном на 31%, а в группе ИГМ с введением ЕроR-βсR на 19%.

Таким образом, применение препарата Цераксон увеличивает двигательную активность, уменьшает чувство тревожности животных, улучшает память после моделирования ИГМ. Введение агониста негематопозитической формы рецептора ЕроR (ЕроR-βсR) угнетает проявление поведенческих реакций животных по сравнению с контролем, но сохраняет память животных после формирования ишемического очага.

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ОКСИДОРЕДУКТАЗ В РАЗНЫХ ЧАСТЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM*) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

М. Р. Малишевский, С. С. Тарасов, Е. В. Михалев

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; malbroz@mail.ru

Горох важная сельскохозяйственная культура в современном растениеводстве. Растение активно культивируется во многих странах мира и представляет интерес как овощная, крупяная и кормовая культура. Технология возделывания гороха тесно связан со средой его культивирования. В основном культуру возделывают на природных почвах с добавлением минеральных удобрений. Однако с научной и прикладной точки зрения стоит уделить внимания возделывания гороха на альтернативных средах. Такими средами на наш взгляд является гидропоника, отработанный соломенный субстрат вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) и смеси данного субстрата с перегноем и речным песком. В связи с этим целью нашей работы явилось исследовать активность каталазы и пероксидазы в разных частях проростка гороха в зависимости от условий культивирования.

В работе использовались газометрическая методика определения активности каталазы, активность пероксидазы фиксировали колориметрическим методом (по Боярскому). Растения выращивали в течение 2-х недель в соответствующих средах. При выращивании на твердых субстратах компоненты были помещены в емкости объемом 5 литров. Посевной материал сажали согласно стандартным методикам. После посадки растения поливали одинаковым объемом отстоявшейся водопроводной воды и культивировали в условиях лаборатории на речном песке, перегной, отработанном соломенном субстрате вешенки, смесях перегной-субстрат и речной песок-субстрат. При культивировании на гидропонике использовались емкости объемом 250 мл. Опытные емкости наполнили раствором Кнопа, контрольные отстоявшейся водопроводной водой. После этого сажали заранее замоченные в течение 2-х суток проросшие семена гороха в отверстиях емкостей и выращивали в условиях лаборатории.

Проведенные эксперименты по изучению зависимости исследуемых оксидоредуктаз от среды культивирования показали неоднозначные результаты. Так, в некоторых случаях наблюдалась корреляция активности каталазы и пероксидазы, а в некоторых фиксировалась разнонаправленность их действия. Активность каталазы в стеблях и корнях гороха наименьшая при культивировании на смеси из перегноя и отработанного соломенного субстрата вешенки, а наибольшая при применении гидропонных сред. Наибольшая активность в семядолях наблюдается при выращивании на твердых субстратах, а на гидропонных наименьшая. Наибольшая активность пероксидазы наблюдается в семядолях гороха, особенно при культивировании на отработанном соломенном субстрате вешенки. В корнях активность пероксидазы наибольшая при культивировании на речном песке и отработанном соломенном субстрате вешенки. В стеблях наблюдается слабая зависимость активности пероксидазы от исследовательских субстратов. Применение отработанного соломенного субстрата вешенки в смеси с перегноем ослабляет нагрузку на ферментативную антиоксидантную систему растений.

РОЛЬ МЕХАНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МИОКАРД В ИНТРАКАРДИАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ РАБОТЫ СЕРДЦА

В. Э. Малков, Е. Е. Харьковская, О. В. Другова, В. А. Костин, И. В. Мухина, Г. В. Осипов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

elharkov@gmail.com

Интракардиальная регуляция работы сердца, которая обеспечивается внутрисердечной нервной системой, принимает участие в формировании ответа сердца на внешние раздражители. Например, на механическое раздражение, которое может изменить ход электрофизиологических процессов в сердце за счет явления механо-электрической обратной связи с участием механо-сенситивных каналов.

Механическое воздействие может быть оказано в виде точечного удара, сжатия или растяжения тканей сердца. Ответная реакция может выражаться в изменении таких параметров работы сердца, как ритм и сила сокращений, скорость проведения электрического сигнала в миокарде, объем коронарного кровотока и других.

Цель данного исследования заключалась в оценке влияния механического растяжения правого предсердия на скорость проведения возбуждения в миокарде левого желудочка сердца. Таким образом, планировалось установить зависимость между физиологическими изменениями в работе правого предсердия и работой желудочков сердца – процессов, предположительно скоординированных работой внутрисердечной нервной системой.

Для достижения поставленной цели исследования была выбрана экспериментальная модель изолированного сердца крысы, перфузируемого по методу Лангендорфа. Изолированное из организма сердце находится вне контроля регуляторных систем, и тем самым достигается возможность оценки собственных ответных реакций органа.

Сердца наркотизированных (изофлуран) белых аутбредных крыс подвергали гравитационной ретроградной перфузии раствором Кребса-Хензелейта (NaCl 118, KCl 4,7, CaCl₂ 2, MgSO₄ 1,2, KН₂PO₄ 1,2, NaHCO₃ 20, глюкоза 10 моль/л, pH=7,36). Раствор аэрировался карбогеном (O₂ – 95%, CO₂ – 5%), температура раствора поддерживалась на уровне +36,6°C, давление на входе в аорту сердца – 75 мм водного столба. Механическое растяжение правого предсердия осуществлялось путем заполнения полости имплантатами из мягкого высокомолекулярного полиэтилена. После 10 минут адаптации сердца к условиям перфузии моделировали растяжение (5 минут). Электрическая активность сердца регистрировалась с помощью системы гибких мультиэлектродных матриц (*MEAFlex72, Multichannel systems*, Германия) для оценки скорости проведения электрического сигнала. Параметры исследования сравнивались в опытной группе относительно контроля.

В результате проведенных исследований было установлено, что скорость проведения возбуждения в левом желудочке увеличивается на фоне растяжения правого предсердия.

Предполагается, что данный эффект может объясняться повышением возбудимости кардиомиоцитов проводящей системы сердца. Что может быть обусловлено деполяризацией мембран кардиомиоцитов синусового узла за счет входящего тока катионов, вызванного активацией механо-сенситивных каналов при растяжении правого предсердия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований в рамках проекта «Исследование коллективной динамики смешанных сред, состоящих из элементов, обладающих качественно различным поведением и имеющих сложную топологию связей», номер 17-02-00467.

ОПРОС И АНКЕТИРОВАНИЕ КАК СРЕДСТВА ДЛЯ ОТСЛЕЖИВАНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ БИОЭТИЧЕСКОЙ КОМПЕТЕНЦИИ

А. А. Мальцева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

uipry@yandex.ru

В условиях модернизации Российской образовательной системы в ответ на поступающие вызовы постиндустриального общества всё сильнее проявляется «мировоззренческая» направленность естественнонаучного образования. В рамках компетентного подхода актуальность нравственного образования выражается через формирование соответствующих компетенций при обучении. В профессиональном биологическом образовании Федеральный государственный образовательный стандарт 3+ отражает эту потребность, в частности, через формирование общепрофессиональной компетенции ОПК-12: «способность использовать знание основ и принципов биоэтики в профессиональной и социальной деятельности» (биоэтическая компетенция).

Уже не первый год в Институте биологии и биомедицины ННГУ проходит педагогический эксперимент, одно из направлений которого отслеживает сформированность биоэтической компетенции у студентов-биологов. Так ранее, например, в ходе разработки и апробации специальных опросников и анкет было выяснено, что для полноценной сформированности компетенции студентам необходимо не просто иметь знания основ биоэтики и уметь использовать их в своей деятельности, но и выработать соответствующее личностное отношение к этим знаниям. Также было показано, что интенсивность личностного отношения студентов к природе не тождественна интенсивности отношения к биообъектам или биоэтическому знанию.

Результаты проведенных ранее опросов студентов позволили нам предположить необходимость разработки и внедрения междисциплинарных тем в традиционных биологических курсах, а также разработки и апробации новых междисциплинарных учебных курсов, которые сейчас находятся на констатирующем этапе педагогического эксперимента.

В рамках данного этапа в настоящее время разрабатывается и апробируется опросник, состоящий из 50 утверждений и включающий в свою организационную структуру 5 компонентов (в каждом по 10 вопросов): взаимодействие людей (морально-нравственный), взаимодействие человека с природой, этика биолога-исследователя, отношение к здоровью, коммуникативные навыки. Каждое утверждение имеет 5-балльную градацию ответа от «никогда» до «всегда» или от «абсолютно не согласен» до «полностью согласен». Основная цель опросника – оценка интенсивности 5 отдельных его составляющих, перечисленных выше. Правильными считаются ответы, совпадающие с ключом. Уровень интенсивности высок, если ответы совпадают с ключом на 80% и более, 60–80% – средний уровень, менее 60% – низкий уровень интенсивности.

После получения результатов по данному опроснику в совокупности с результатами работы с опросником по выявлению интенсивности отношения к биоэтическим знаниям планируется провести статистическую обработку на предмет возможных корреляций между уровнем интенсивности отношения к биоэтическим знаниям и уровнем интенсивности отдельных содержательных компонентов нового опросника, что позволит понять, каким аспектам биоэтической компетенции необходимо уделить больше внимания для ее полноценного формирования.

ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

А. А. Мартусевич, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
a_martusewich@mail.ru

Особенности реализации модулирующего влияния биорадикалов на живые системы, обусловленные их природой и физико-химическими свойствами, расшифрованы недостаточно полно. В частности, неизвестным остается характер воздействия биорадикалов на электрокинетические свойства эритроцитов. Ранее нашими исследованиями и работами других авторов было показано, что электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), являющаяся их количественной мерой, может рассматриваться как неспецифический индикатор состояния эритроцитоза и его реакции на изменения гомеостаза и внешние воздействия на организм. На основании этого целью работы служило изучение электрофоретической подвижности эритроцитов при действии экзогенных активных форм кислорода на образцы крови человека *in vitro*.

Исследование выполнено на образцах крови 15 здоровых доноров. Каждый образец был разделен на 5 равных порций по 5 мл., первая из которых являлась контрольной (в ней не проводили никаких манипуляций), остальные барботировали различными газовыми смесями (единые параметры обработки для всех воздействий: объем газовой смеси – 100 мл., продолжительность барботирования – 3 мин.). Вторую порцию крови обрабатывали озono-кислородной смесью (концентрация озона – 500 мкг/л), третью – синглетно-кислородной воздушной смесью (примененная мощность генератора – 100%). Продолжительность экспозиции после обработки – 5 мин.

Синтез озono-кислородной смеси осуществляли с помощью озонатора «Медозонс-БМ» (Нижний Новгород, Россия). Воздушный поток, содержащий синглетный кислород, получали с применением аппарата «Airnergy» (Германия). Из всех образцов крови выделяли эритроциты, для которых изучали ЭФПЭ методом микроэлектрофореза.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскала-Уоллеса.

Установлено, что изучаемые экзогенные биорадикалы оказывают неодинаковое влияние на ЭФПЭ крови человека. Так, обе изучаемые АФК (озон и синглетный кислород) изменяют данный показатель, однако эти сдвиги разнонаправлены. В частности, барботирование крови озono-кислородной смесью с концентрацией озона 500 мкг/л инициирует существенное снижение значения параметра (на 22%; $p < 0,05$ по сравнению с контрольным образцом), тогда как обработка биологической жидкости синглетно-кислородной газовой смесью вызывает умеренное повышение уровня ЭФПЭ (на 13% относительно контроля; $p < 0,05$). Это обусловлено тем обстоятельством, что даже небольшие количества озона, введенные в биосреду, обеспечивают стимуляцию процессов липопероксидации, приводя к структурным перестройкам мембраны эритроцитов и, следовательно, изменению их электрокинетических характеристик.

На основании проведенных исследований показано, что экзогенные активные формы кислорода специфично и дозозависимо влияют на электрокинетические свойства эритроцитов человека в условиях *in vitro*. При этом озono-кислородная смесь обеспечивает снижение данного показателя, а обработка образцов крови синглетным кислородом приводит к усилению электрокинетической активности клеток крови.

ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ *HELICOBACTER PYLORI* СТИМУЛИРОВАТЬ ОБРАЗОВАНИЕ TH17 И ИНДУЦИРОВАТЬ ПРОДУКЦИЮ INF- γ

Д. А. Мелентьев^{1,2}, В. А. Лапин^{1,2}, Е. В. Моханова², М. В. Талаева², М. И. Цыганова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;

²Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;
dim-melente@yandex.ru

Бактерии *Helicobacter pylori* являются мелкими грамтрицательными, неспорообразующими, микроаэрофильными обычно спиралевидно изогнутыми палочками. Достоверно известно, что *H. pylori* избирательно колонизирует слизистую желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК) человека, а также считается этиологическим агентом острых и хронических форм гастрита, язвенной болезни и других заболеваний.

В настоящее время имеются данные, что *H. pylori* способен направлять дифференцировку клеток иммунной системы по пути, благоприятствующему выживанию возбудителя в организме. Доказано, что *H. pylori* способствует достоверному повышению содержания FoxP3-положительных Т-регуляторных клеток (T-reg) в опытах на модельных животных. Ряд наших предыдущих работ показал наличие способности *H. pylori* вызывать генерацию T-reg клеток при прямом контакте между бактериями и отвечающими лимфоцитами. Однако остается невыясненной роль Т-хелперов 1-го и 17-го типов (Th1 и Th17) в вызываемой *H. pylori* иммунной реакции. Существуют данные, что *H. pylori* может влиять на содержание Th1 и Th17 клеток, а также концентрацию продуцируемых ими цитокинов.

На данный момент Th1 и Th17 рассматриваются как наиболее вероятные кандидаты на роль основных медиаторов *H. pylori*-ассоциированного аутоиммунного гастрита. Данные об участии Th1 в развитии аутоиммунного гастрита немногочисленны, однако достаточно полно показана их роль в развитии иных аутоиммунных патологий.

Целью нашей работы была оценка способности *H. pylori* стимулировать образование Th17, а также продукцию интерферона II (INF- γ), являющимся основным продуктом Th1 клеток, в условиях прямого контакта между бактериями и Т-клетками, без участия профессиональных антигенпрезентирующих клеток.

Для оценки данной способности проводили сокультивирование чистой культуры *H. pylori* с Т-клетками человека. После чего оценивали действие *H. pylori* в разных концентрациях на Т-лимфоциты цитофлюорометрическим методом по изменению содержания в культуре клеток фенотипа CD4⁺/CD161⁺/IL-17A, а также исследовали содержание INF- γ в культурах клеток методом ИФА.

Содержание Th17 в контрольной культуре лимфоцитов составило 9,18±1,2%, в культурах, стимулированных *H. pylori*, при соотношении *H. pylori* к лимфоцитам как 10:1, составило 9,18±0,82%, в соотношении 20:1 – 8,3±0,74%, а в соотношении 50:1 – 7,95±1,04%. Для имитации сигнала профессиональных антигенпрезентирующих клеток мы дополнительно стимулировали культуры моноклональными антителами к CD3 и CD3/CD28. Такая стимуляция также не вызвала заметного изменения концентрации клеток. Однако было отмечено повышение уровня INF- γ . В контроле продукция INF- γ составила 10±4,08 пг/мл, но при добавлении бактерий в соотношении 10:1 поднималась до 835±351,4 пг/мл, при соотношении 20:1 – 745±164,1 пг/мл, при 50:1 – 135±121,8 пг/мл. В культурах, дополнительно стимулированных антителами, продукция INF- γ была статистически неотличима от вариантов, получивших только бактериальную стимуляцию.

Таким образом, прямое воздействие *H. pylori* не вызывало повышения содержания Th17, однако приводило к всплеску содержания INF- γ , что косвенно может указывать на изменения в функционировании Th1 клеток.

МИКРООРГАНИЗМ, ОБЕЗВРЕЖИВАЮЩИЙ БЕЛЫЙ ФОСФОР

А. З. Миндубаев¹, А. Д. Волошина¹, Э. В. Бабынин², Д. Г. Яхваров¹

¹Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова РАН, 420088, Казань, ул. Арбузова 8; mindubaev@iopc.ru

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18

Белый фосфор Р₄ является одним из самых опасных загрязнителей окружающей среды. Тем не менее, у элемента фосфора есть уникальное качество – будучи сильнейшим ядом в виде простого вещества, в окисленном состоянии он абсолютно необходим для всех форм жизни. Целью настоящего исследования являлась переработка белого фосфора при помощи микроорганизма.

Нами впервые произведен посев микроорганизма в культуральную среду, содержащую белый фосфор в качестве единственного источника фосфора. В данной среде микроорганизм рос и не испытывал фосфорное голодание. Это первый в мире пример включения белого фосфора в биосферный круговорот элемента фосфора. Самая высокая концентрация соответствует превышению ПДК белого фосфора в сточных водах в 5000 раз, а в водах хозяйственно-бытового назначения – в сто миллионов раз!

Для генетической идентификации гриба, метаболизирующего белый фосфор и отнесенного к виду *Aspergillus niger*, была определена нуклеотидная последовательность его регионов ITS1 и ITS2. Сравнение полученной последовательности с последовательностями базы данных GenBank с помощью системы BLAST, позволяет идентифицировать данный микроорганизм, как новый штамм *A. niger*. Ему мы присвоили номер *A. niger* AM1. Нуклеотидная последовательность штамма опубликована в базе данных GenBank, где ей присвоен номер KT805426.

Посев *A. niger* AM1 в среду, содержащую сразу два источника фосфора (фосфат и белый фосфор) продемонстрировал, что Р₄ не проявляет токсические свойства по отношению к этому микроорганизму. В присутствии белого фосфора он растет с такой же скоростью, как в его отсутствие. Это единственный пример отсутствия токсичности белого фосфора для живого организма.

Проведена оценка генотоксичности белого фосфора при помощи SOS-lux теста, которая продемонстрировала ее наличие. Этот результат получен впервые – во всех найденных нами источниках сообщается об отсутствии генотоксических свойств у белого фосфора. Белый фосфор проявляет слабую мутагенную активность.

Очень интересный результат показал посев в среду с белым фосфором и фосфатом. Колонии растут очень хорошо, даже более развитые, чем в среде с фосфатом. Р₄, судя по всему, нетоксичен для данного гриба.

Одной из серьезных проблем, с которой мы до сих пор сталкивались, производя посевы микроорганизмов в среды с белым фосфором, было отсутствие эффективного метода стерилизации. Был предложен метод стерилизации Р₄ в мягких условиях, без применения высоких температур. Для этого навеска ксенобиотика должна погружаться на 15 минут в липофильный органический растворитель (мы использовали ацетон). В контрольных средах рост отсутствовал спустя 117 дней, они остались прозрачными без опалесценции и взвесей. Это указывает на то, что стерилизация навесок Р₄ ацетоном эффективна.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОСЕНСОРА *ESCHERICHIA COLI* M-17 В КАЧЕСТВЕ БИОИНДИКАТОРА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ СНЕЖНОГО ПОКРОВА НИЖНЕГО НОВГОРОДА

Ю. И. Миронова, А. В. Козлов

Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы Минина,
603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1; a_v_kozlov@mail.ru

В настоящее время локальное загрязнение атмосферы автотранспортом и промышленными предприятиями приобрело хронический характер. По отношению к процессам массопереноса и накопления токсикантов атмосферный воздух относится к преимущественно транспортирующей среде. Поэтому в мониторинге загрязнения воздушных масс используются природные «планшеты», к которым относится снежный покров. В климатических широтах снеготаяния и на территориях постоянного снежного покрова Земли он является депонирующей средой техногенных загрязнений. По результатам различных наблюдений, проведенных за последние 10 лет, выявлено, что концентрация загрязняющих веществ в снеге оказывается, как правило, на 2–3 порядка выше, чем в атмосферном воздухе.

Ряд авторов указывает, что химический состав покровных отложений снега формируется под влиянием многих факторов: первоначального поступления веществ вместе с твердыми атмосферными осадками, поглощения аэрозолей и газов из атмосферы, потери веществ снежным покровом при испарении, взаимодействия снежной массы с почвенно-растительным комплексом, адвекции атмосферного воздуха, некоторого воздействия микроорганизмов и животных, а также хозяйственной деятельности человека. С другой стороны, химический состав фильтрата талого снега формируется в результате поступления с осадками различных химических элементов, поглощения снежным покровом газов, водорастворимых аэрозолей и взаимодействия со снежным покровом твердых частиц, оседающих из атмосферы. При этом, по мнению исследователей, если количество выпадающего со снегом твердого осадка характеризует запыленность территории, то фильтрат талого снега отражает степень загрязнения воздушного бассейна растворимыми формами элементов. Снежный покров подобно почве обладает способностью активно накапливать химические элементы и их соединения, вследствие чего является хорошим индикатором для выявления процессов загрязнения территорий в течение зимнего периода. В связи с этим, исследование снежного покрова на наличие и уровень концентраций в нем поллютантов является важнейшей составной частью при проведении эколого-геохимического обследования территории. Это определяет важность и необходимость проведения эколого-геохимической оценки загрязнения снежного покрова как естественного накопителя загрязняющих веществ, которые, в свою очередь, способны проявлять токсический эффект по отношению к живым организмам.

Нами дана оценка тест-объекта *Escherichia coli* M-17 как биосенсора интегральной токсичности проб снега, работа которого основана на изменении интенсивности люминесценции люциферазы данной генно-инженерной бактерии в зависимости от эффекта суммарного действия всех токсикантов, находящихся в пробе воды снега. Данный принцип заложен в основу работы экспресс-анализатора токсичности БИОТОКС 10-М с помощью биосенсора «Эколюм». Исследование проводилось в течение 2 лет (2017–2018 гг.). Пробы снега отбирались равномерно с территории автомагистралей Нижнего Новгорода (Сормовское шоссе и просп. Гагарина) в непосредственной близости от дороги с визуально незагрязненных участков.

В среднем за 2 года было установлено, что пробы воды снега, отобранного с автомагистрали заречной части города, в целом проявили среднюю токсичность – 42%, $V = 38,6\%$ (2 группа), а отобранного с автомагистрали нагорной части – проявили острую токсичность (67%, $V = 17,9\%$) по отношению к тест-объекту (3 группа). Таким образом, установлена реакция тест-объекта *E. coli* M-17 на наличие токсикантов в пробах снежного покрова.

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО РАЗРУШЕНИЯ ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТ ПРОТЕОГЛИКАНОВ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕОПТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ ГИПОТАЛАМУСА НА СОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИИ WISTAR

М. А. Могутина¹, З. Д. Журавлева¹, И. В. Мухина^{1, 2}

¹ Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mariamogutina@bk.ru

² Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603950, ГСП-470, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Перинейрональные сети представляют собой структурированную сеть мелекул внеклеточного матрикса, окружающую нейроны, и состоящую из гиалуроновой кислоты, протеогликанов, соединительных белков, и тенасцина-R. Хондроитин сульфат протеогликанов принимают участие в регуляции синаптической пластичности, ограничивая подвижность молекул постсинаптических рецепторов и, тем самым, создавая барьер против образования новых синаптических контактов.

Расщепление хондроитин сульфат протеогликанов хондроитиназой ABC повышает способность нервной ткани к структурной пластичности, скорее всего за счет снижения «барьерной» функции внеклеточного матрикса мозга и повышения возбудимости ГАМК-эргических интернейронов. Ранее для нейронов гиппокампа показано, что хондроитиназа ABC переводит нейронную сеть в неустойчивое состояние.

В ходе исследования было проведено тестирование социального поведения самцов крыс линии Wistar в тесте Кроули в исходном состоянии, через 2 часа и через 7 дней после энзиматического разрушения хондроитин сульфат протеогликанов медиальной преоптической области (МПО) гипоталамуса, ответственной за половое и социальное поведение. Для внутригипоталамического введения хондроитиназы ABC интактные животные подвергались операции по билатеральному вживлению канюль. После восстановительного периода экспериментальной группе была проведена билатеральная микроинъекция хондроитиназы ABC (50 ед/мл), а контрольной – билатеральная микроинъекция раствора Рингера. До и после канюлирования проводили тестирование социального поведения.

Спустя 2 часа после микроинъекций самцы экспериментальной группы проводили равное количество времени как в зоне с животным своего помета, так и в зоне с животным из чужого помета, в отличие от интактной и контрольной групп, где выявлено достоверное предпочтение зоны с животным из чужого помета. Через 7 дней после микроинъекций самцы экспериментальной группы проводили равное количество времени как в зоне с животным своего помета, так и в пустой зоне, в отличие от интактной и контрольной групп, где выявлено достоверное предпочтение зоны с животным из своего помета. Данный эффект может свидетельствовать о повышении социальной активности животного после разрушения перинейрональных сетей МПО гипоталамуса, обусловленное, вероятно, изменением синаптических связей в нейронной сети гипоталамуса.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ORCHIDACEAE, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

И. Э. Моисеева, А. А. Брилкина, Л. А. Крюков

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
moiseeva.irina96@yandex.ru

Фенольные соединения орхидных играют центральную роль в защите растений от насекомых и патогенов, а также от избыточной инфекции микобиотом. Некоторые фенольные соединения интересуют человека в качестве лекарственных. Для дальнейшего изучения качественного состава растений необходимо провести количественный анализ. В настоящей работе исследовано количественное содержание фенольных соединений в некоторых видах орхидей, культивируемых *in vitro*. Объектом исследования являлись микрорастения *Disa uniflora*, *Dendrobium crumentatum*, *Phragmipedium covacii*, *Epidendrum carporhorum*, *Cypripedium flavum*, *C. reginae*, относящиеся к семейству орхидные (Orchidaceae).

Растения выращивали на свету (16/8 ч., 3000 кЛюкс, температура +20°C) на питательных средах: для видов рода *Cypripedium* – среда Malmgren, для остальных видов – среда Fast. Длительность пассажа составляла три месяца. Содержание фенольных соединений (СРФС, флавоноиды, катехины) определяли в побегах и корнях видов рода *Cypripedium*, у остальных видов определяли в цельных микрорастениях. Сумму фенольных соединений получали при экстракции 80% этанолом. Анализ содержания суммы растворимых фенольных соединений проводили согласно методике, описанной М.Н. Запрометовым, с помощью реактива Фолина-Денис; суммы флавоноидов – с помощью хлорида алюминия согласно G. Gunes, R.H. Liu, C.V. Watkins; катехинов – помощью ванилинового реактива согласно М.Н. Запрометову. Оптическую плотность получаемых растворов определяли с использованием спектрофотометра UV-1700 (Shimadzu, Япония).

Было выявлено, что содержание суммы растворимых фенольных соединений в корнях, как правило, выше, чем в побеговой части орхидных микрорастений рода *Cypripedium* (*C. flavum* – корни – 3,13, побеги – 2,33 мг/г сырой массы, *C. reginae* – корни – 9,1, побеги – 4,36 мг/г сырой массы). Хотя для *Cypripedium reginae* соотношение было обратным – содержание СРФС в корнях – 5,15, в побегах – 7,06 мг/г сырой массы. В микрорастениях тропических видов орхидей обнаружено более низкое содержание суммы растворимых фенольных соединений: *D. uniflora* – 1,78 мг/г сырой массы, *D. crumentatum* – 1,26 мг/г сырой массы, *Ph. covacii* – 2,3 мг/г сырой массы, *E. carporhorum* – 3,24 мг/г сырой массы.

При анализе суммарного содержания флавоноидов наибольшее количество было выявлено в корнях *C. reginae* – 6,68 мг/г сырой массы и побегах *C. reginae* – 5 мг/г сырой массы. В тропических орхидеях обнаружено более низкое содержание флавоноидов (*D. uniflora* – 0,27 мг/г сырой массы, *D. crumentatum* – 1,28 мг/г сырой массы, *Ph. covacii* – 1,09 мг/г сырой массы, *E. carporhorum* – 2,68 мг/г сырой массы). Содержание катехинов составляло до 50% от суммы флавоноидом. Наибольший уровень катехинов зафиксирован в корнях *C. reginae* – 2,53 мг/г сырой массы.

Таким образом, микрорастения орхидей, относящиеся к видам рода *Cypripedium* продуцируют значительное количество фенольных соединений, в сумму которых весомый вклад вносят катехины, являющиеся одними из наиболее важных биологически активных биофлавоноидов.

ОСОБЕННОСТИ ЭЭГ У СТУДЕНТОВ С РАЗНЫМИ ПРОФИЛЯМИ МОТОРНОГО ДОМИНИРОВАНИЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ЗАДАЧ

К. А. Моренова

Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, 443086, Самара, Московское шоссе, 34; *kricaks@ya.ru*

Актуальной проблемой нейробиологии является исследование ЭЭГ-коррелятов воображаемых и реальных движений у лиц с разными профилями моторного доминирования. Целью нашей работы являлся анализ ритмов ЭЭГ у правшей и левшей при воображаемом и реальном напряжении мышц ведущей и неведущей ноги. Обследованные студенты с учетом значений коэффициентов моторной асимметрии были разделены на 4 группы – левши с высокой ($n = 7$) и низкой ($n = 14$) степенью правополушарного доминирования (НСПД и ВСПД) и правши с высокой ($n = 8$) и низкой ($n = 13$) степенью левополушарного доминирования (НСЛД и ВСЛД). Регистрацию ЭЭГ осуществляли по международной схеме «10-20» на нейровизоре «NVX 36 digital DC EEG» в покое, при воображении и осуществлении движения правой и левой ногой. Анализировали спектральную мощность ритмов ЭЭГ в стандартных диапазонах частоты, определяли типы ЭЭГ, оценивали амплитуду альфа-ритма в центральных (С3, С4) и фронтальных (F3, F4) отведениях.

Установлено, что спектральная мощность ритмов ЭЭГ и типы ЭЭГ в покое и при двигательных задачах у левшей и правшей характеризовались определенными различиями. В покое 71,4 % левшей с НСПД имели I тип ЭЭГ, а 28,6 % – III тип, тогда как у всех левшей с ВСПД отмечался I тип ЭЭГ. При воображении и выполнении движений ногами в первой группе увеличивалось количество лиц с III типом ЭЭГ (до 42,9 %), а во второй группе тип не менялся. У правшей с НСЛД, в покое 61,5 % лиц проявили I тип ЭЭГ, а 38,5 % – III тип, в то же время у 75 % испытуемых с ВСЛД отмечался I тип ЭЭГ. Во время выполнения двигательных задач, в отличие от левшей, у некоторых лиц с НСЛД проявлялся II тип ЭЭГ (15,4 %), причем наиболее лабильными оказались испытуемые с исходным III типом ЭЭГ. В группе с ВСЛД в процессе выполнения воображаемых и реальных действий отмечается лишь небольшое увеличение количества лиц с III типом ЭЭГ (до 46,2 %).

Двигательные задачи вызывали десинхронизацию альфа-ритма в отведениях С3-С4 и F3-F4, но с разной выраженностью. У левшей наибольшее угнетение центрального альфа-ритма наблюдалось у лиц с ВСПД (на 37,0 %), а амплитуда фронтального альфа-ритма, наоборот, сильнее снижалась у студентов с НСПД (на 58,3 %). При этом в покое активность данного ритма наоборот преобладала в центральных отведениях у группы с ВСПД, а во фронтальных – у левшей с НСПД. Сходная картина оказалась характерна и для правшей. Так, лица с ВСЛД во время воображаемых и реальных движений имели наибольшую десинхронизацию альфа ритма в центральных отведениях (44,6 %), а испытуемые с НСЛД – во фронтальных зонах коры (47,1 %). В данном случае, в покое значимых различий между активностью альфа ритма в различных областях коры обнаружено не было. Это касается и различий в динамике альфа-ритма при использовании ведущей и неведущей ноги как левополушарными, так и правополушарными студентами.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о зависимости ЭЭГ-активности у испытуемых в условиях воображения и выполнения двигательных актов ногами от профиля моторного доминирования и степени его выраженности. Степень полушарного доминирования обуславливает топографическое распределение спектральной мощности ритмов ЭЭГ, что выражается в различных типовых особенностях спектральных карт. Амплитуда альфа-ритма в центральных и фронтальных областях коры больших полушарий также зависит от степени полушарного доминирования и может отражать различную степень участия сенсомоторных и соматосенсорных зон в воображении и выполнении двигательных актов нижними конечностями.

ВЫДЕЛЕНИЕ H₂O₂-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО БЕЛКОВОГО СЕНСОРА NuPer И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК

А. А. Морозова, О. М. Кутова, Н. Н. Пескова, Е. Л. Гурьев, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

moroz-42@bk.ru

В последнее время уделяется много внимания роли молекулы H₂O₂ в сигнальных каскадах физиологических процессов. Одним из наименее инвазивных методов измерения концентрации молекул пероксида в живых системах является использование флуоресцентных сенсоров на основе GFP белков из семейства NuPer. Сигнальной частью NuPer является белок srYFP – мутантная форма GFP, роль сенсорной части выполняет чувствительный к пероксиду домен белка OxyR-RD из *Escherichia coli*. NuPer является ратиометрическим флуоресцентным сенсором, что является его преимуществом – он позволяет определять содержание H₂O₂ вне зависимости от количества наработанного клеткой сенсора. Несмотря на это преимущество, динамическое соотношение окисленной и восстановленной форм белка затрудняет определение абсолютной концентрации H₂O₂ в клетке. Целью данной работы являлось получение белкового сенсора NuPer и исследование его спектральных свойств в лизате клеток *E. coli* и в очищенном образце белка в зависимости от концентрации H₂O₂ и восстановителя (β-меркаптоэтанола).

Для получения бактериального лизата, содержащего H₂O₂-чувствительный сенсор NuPer, и последующего получения очищенного белка производилась трансформация клеток *E. coli* штамма BL21(DE3), вектором на основе плазмиды pQE30. Индукцию проводили с помощью 0,1мМ ИПТГ. Очистка производилась методами металл-хелатной хроматографии и гель-фильтрации. Идентичность белка подтверждалась определением его молекулярной массы методом ПААГ-электрофореза в денатурирующих условиях. Специфичная идентификация по гексагистидиновой последовательности производилась с помощью вестерн-блоттинга. Исследование изменений в спектре возбуждения флуоресценции NuPer в ответ на окисление и восстановление производилось при его экспозиции с пероксидом водорода (окисление), и β-меркаптоэтанолом (восстановление).

Было проанализировано изменение спектральных свойств NuPer в очищенном виде и в бактериальном лизате при окислении пероксидом водорода (25 нМ, 100нМ и 250нМ), а также при восстановлении β-меркаптоэтанолом (5мМ и 0,5 мМ). Очищенный препарат NuPer, как и лизат клеток-продуцентов, демонстрирует спектральные характеристики, подтверждающие его чувствительность к пероксиду. В то же время, показано влияние чистоты препарата белка на регистрируемые ратиометрические показатели, что может быть обусловлено его низкой стабильностью в очищенном виде. Кроме этого, показано существенное отличие диапазона изменения ратиометрических показателей NuPer в очищенном виде от такового, регистрируемого в эукариотических клетках *in vivo*, что необходимо учитывать при использовании данного сенсора.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (договор № 14.Z50.31.0022).

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ОЗОНИРОВАНИЯ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ГОРОХА (*PISUM SATIVUM*)

С. С. Морюнова, А. А. Гаврилова

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия», 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; svetka09081997@gmail.com

Практическое значение в вопросах предпосевной обработки семян имеет их физиологическое состояние и условия обработки, а не только оптимальный режим и длительность действия физического фактора. Наиболее безвредным и экологически чистым способом обработки семян, на наш взгляд, является озонирование. Целью настоящей работы являлось изучение влияния условий озонирования и физиологического состояния на морфометрические показатели прорастания семян гороха. В качестве изучаемого биологического объекта были выбраны семена гороха (*Pisum sativum*) сорта сорта Альбумен.

Озон получали методом барьерного разряда в специальной камере, где и производили обработку семян озono-воздушной смесью (ОВС). Концентрация озона в озono-воздушной смеси составляла 300 мг/м³, время действия 5, 20 и 40 мин. Доза озона определялась как произведение концентрации озона на время озонирования и составляла 1500, 6000 и 12000 мг·мин/м³ соответственно. В качестве изучаемых показателей прорастания определяли всхожесть, энергию прорастания семян, средние массу, длину проростков и скорость прорастания. Полученные данные обрабатывали методом дисперсионного анализа с использованием программы Excel при 5% уровне значимости ($p=0,05$). Семена гороха подвергали действию озона в нескольких вариантах условий и состояния семян: обработка сухих семян с последующим замачиванием, обработка озонированной водой (ОДВ), которую получали путём барботирования, обработка только что замоченных семян, а также спустя сутки после замачивания.

Результаты проведенных исследований показали, что при воздействии ОВС наблюдается достоверное повышение всхожести на 33,3% по сравнению с контролем при большей дозе 12000 мг·мин/м³, а озонированная вода особого действия на всхожесть семян не оказывает. При этом средняя длина побега у проростков достоверно увеличивается на 17,0% при малой дозе озона 1500 мг·мин/м³. При обработке семян ОВС в воде без предварительного замачивания при дозе 6000 мг·мин/м³ хотя и незначительно, но достоверно повышало всхожесть (4,5%), а средняя длина побега существенно отличалась от контрольного значения и снижалась с увеличением дозы озона: 35,8%, 29,3% и 18,9% для 1500, 6000 и 12000 мг·мин/м³ соответственно. Таким образом, наиболее оптимальной можно назвать дозу 6000 мг·мин/м³.

Также проводили обработку семян озono-воздушной смесью, замоченных в течение суток. В этом случае воздействию озона подвергались прорастающие семена. Результат воздействия менялся также и с выбором времени года (сезона) озонирования, что связано с состоянием покоя семян. Так, при весенней обработке практически все дозы озона приводили к достоверному стимулирующему эффекту воздействия на всхожесть семян гороха и среднюю скорость прорастания. Выявленная оптимальная доза воздействия озона здесь также соответствовала 6000 мг·мин/м³. Всхожесть семян, обработанных этой дозой, на второй день прорастания увеличилась в 2,3 раза. Процент к контролю по скорости прорастания при этой дозе был равен 73,2%. Во время зимней обработки практически все показатели прорастания снижали свои значения по сравнению с контролем, однако среднее время прорастания было достоверно, хотя и незначительно (5,9%) выше для дозы 6000 мг·мин/м³, а при наибольшем ее значении 12000 мг·мин/м³ возрастало до 10,5%. Это, на наш взгляд, показывает, что для вывода из состояния покоя семена требуется обработка более высокими дозами.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ ЭКСПЛАНТОВ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ (*VACCINIUM CORYMBOSUM*)

Г. Р. А. Мохамед

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Gamil.rayan306@gmail.com

Биотехнологические методы в последние десятилетия прочно вошли в растениеводческую практику. Голубика высокорослая является ценной ягодной культурой и характеризуется значительным разнообразием биологически активных веществ. В последнее время для получения посадочного материала голубики все большее значение приобретает использование метода культуры тканей. Кроме того, этот метод позволяет ускоренно размножать новые перспективные культуры, получать здоровый растительный материал, работать в лаборатории круглый год и планировать выпуск посадочного материала к определенному сроку. Проблема стерильности растительных эксплантов в биотехнологических лабораториях стоит достаточно остро, так как микроорганизмы могут попадать вместе с растением, которое вводят впервые в культуру или при какой-либо работе с культурой ткани. Соблюдение стерильности при работе с растительными эксплантами является необходимым условием для успешного выполнения остальных этапов работы с культурой клеток и тканей. Целью работы является получение асептической культуры *Vaccinium corymbosum* при действии стерилизующего реагента в различной концентрации и экспозиции.

Объектом исследования служила *Vaccinium corymbosum*. В качестве эксплантов использовали семена, сегменты стебля и листа. Предварительную стерилизацию первичных эксплантов проводили путем промывания в мыльной воде, с последующей отмыжкой стерильной водой. Обработку первичного растительного материала проводили раствором коммерческого отбеливателя «Белизна» (5 мг/л гипохлорида натрия NaOCl), с добавлением нескольких капель 0,1% «Твин-80» в различных концентрациях – 2,5, 5, 10, 15 и 20% в течение 5, 7, 10, 15 и 20 мин. После каждой обработки, эксплантаты промывали стерильной дистиллированной водой 3-4 раза, чтобы удалить все следы дезинфицирующего средства. После стерилизации экспланты были высажены на твердую базовую среду WPM, с добавлением 100 мг/л миоинозитола, 30 г/л сахарозы и 7 г/л агара. Высаженные экспланты выращивали в лабораторных условиях при искусственном освещении (3000 Люкс) в условиях фотопериода: 16/8ч свет/темнота и температуре воздуха 26±2 °С.

Высокий процент выживаемости (100%) семян и сегментов стебля *Vaccinium corymbosum* при введении в асептическую культуру был получен при использовании метода стерилизации с применением 15% раствора белизны с экспозицией 10 минут. Выживаемость эксплантов оставалась высокой (90%) для листьев и апикальной части стебля в результате обработки 10% раствором белизны с экспозицией 10 минут.

Таким образом, данные, полученные по результатам исследований, имеют важное значение для достижения максимально возможной выживаемости эксплантов с минимальным процентом заражения и гибели.

РОЛЬ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В РЕГУЛЯЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ОТВЕТА В ЛИСТЬЯХ ГОРОХА ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

М. А. Мудрилов, В. А. Воденев, Л. М. Сурова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mtengri@yandex.ru

Растения, являясь прикрепленными малоподвижными организмами, выработали широкий спектр механизмов, обеспечивающих соответствующую реакцию в ответ на многочисленные внешние стимулы. Особую важность для нормальной жизнедеятельности растений представляет собой адекватная и своевременная регуляция фотосинтеза, для оптимальной его адаптации к изменяющимся условиям. Возможным сигналом, способным обеспечить подобную регуляцию, может выступать переменный потенциал (ВП), генерируемого в ответ на раздражители, чьи параметры, такие как вероятность возникновения, амплитуда и скорость распространения, проявляют определенную зависимость от типа раздражителя. Целью данной работы является поиск зависимости параметров фотосинтетического ответа и транспирации от параметров переменного потенциала, вызванного действием различных типов раздражителей.

Объектом исследования выступали 2–3-х недельные проростки гороха (*Pisum sativum*). В качестве локальных раздражителей использовали ожог открытым пламенем, постепенный нагрев и раздавливание участка листа. Электрическую активность фиксировали внеклеточно, электроды размещались на стебле растения и на соседней листовой пластинке исследуемого листа. Анализ фотосинтетических параметров и газообмена производилась при помощи системы, включающей РАМ-флуориметр и инфракрасный газоанализатор, на листе, расположенном ниже по стеблю от стимулируемого листа.

В результате воздействия генерируется переменный потенциал, в случае ожога и нагрева распространяющийся в исследуемый лист. Были обнаружены фотосинтетический ответ, выразившийся в значительном снижении уровня ассимиляции CO_2 , эффективности фотохимических реакций фотосистем I и II (YI и YII) и ростом уровня нефотохимического тушения (NPQ) при ожоге и нагреве. Кроме того, фиксировалось изменение транспирации, во многих случаях двухфазное, в виде небольшого начального роста с последующим снижением значительной амплитуды. В случае раздавливания изменений практически не наблюдалось. Важно отметить, что генерация фотосинтетического ответа следует по времени за распространением электрического сигнала на соседней листовой пластинке, причем амплитуды фотосинтетического ответа коррелируют с амплитудой ВП, в особенности для нагрева. Однако в случае транспирации корреляция проявляется в куда меньшей степени, к тому же, начальная фаза в ряде случаев опережает фиксируемые изменения электрического потенциала, что может свидетельствовать о возможном участии другого типа сигнала для регуляции транспирации. В целом, полученные результаты подтверждают возможность зависимости параметров ответа фотосинтеза от параметров электрического сигнала.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки, проект № 6.3199.2017/ПЧ, и Российского фонда фундаментальных исследований (Проект № 18-34-00644 мол_а).

**ФАУНА И НАСЕЛЕНИЕ ПТИЦ БОТАНИЧЕСКОГО САДА–ИНСТИТУТА
ПОВОЛЖСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА**

К. С. Мудрова¹, В. В. Дробот², В. И. Дробот¹, А. М. Сергеева¹

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ул. Ленинские горы, 1

Полевые работы проводились в 2016–2017 гг. Применялась методика маршрутного учета без ограничения ширины полосы учета, с использованием малого числа радиальных интервалов обнаружения. Протяженность рабочего маршрута составляла 2,8 км. Учеты проводились многократно: в предгнездовой период (март-апрель) – 4 учета, в гнездовой (май-июнь) – 6, в постгнездовой (июль-август) – 6, в осенний (сентябрь-середина ноября) – 5, в зимний (ноябрь-февраль) – 9. При анализе результатов в качестве итоговых показателей обилия в предгнездовой и гнездовой периоды использовались максимальные значения из каждой серии учетов, в остальных случаях – средние значения. За весь период наблюдений было зарегистрировано 43 вида птиц из 16 семейств, 4 отрядов: соколообразные, кукушкообразные, дятлообразные, воробьинообразные. Зимняя фауна наименее разнообразна и представлена двумя зимующими видами (свиристель обыкновенный, снегирь обыкновенный) и 15 оседлыми видами, среди которых 5 видов дятлов (белоспинный, малый пестрый, большой пестрый, желна, седоголовый), по 4 вида врановых (сойка, сорока, ворона серая, ворон) и синицевых (гаичка буроголовая, московка, лазоревка обыкновенная, синица большая), а также синица длиннохвостая и поползень обыкновенный. Наиболее разнообразна фауна в гнездовой и постгнездовой периоды – 37 и 38 видов соответственно. К оседлым добавляются многочисленные перелетные виды, возвращающиеся на гнездование. В орнитоценозе в эти периоды преобладали представители отряда воробьинообразные. В том числе 8 видов из семейства славковые (камышевка садовая, пересмешка зеленая, славка черноголовая, славка серая, пеночка-весничка, пеночка-теньковка, пеночка-трещотка, пеночка зеленая), 4 вида из семейства дроздовые (рябинник, белобровик, дрозд певчий и черный), 4 вида из семейства мухоловковые (мухоловка-пеструшка, горихвостка садовая, зарянка, соловей обыкновенный). Семейство вьюрковые было представлено зябликом, зеленушкой обыкновенной и чечевицей обыкновенной. Кроме того, из воробьиных птиц на гнездовании были отмечены конек лесной, трясогузка белая, завирушка лесная, королёк желтоголовый, а также представители других отрядов (коршун черный, кукушка обыкновенная). Фауна в предгнездовой и осенний периоды относительно разнообразна и включает соответственно 26 и 24 вида. Плотность населения птиц на протяжении всего периода исследования была высокая, особенно в предгнездовой (1659,4 особей/км²) и гнездовой периоды (1820,1 особей/км²). Даже в осенний и зимний периоды, когда численность птиц сокращалась вследствие особенностей климатического характера, значения обилия оставались на высоком уровне (505,8 и 491,4 особей/км² соответственно). Основу численной структуры орнитоценоза во все сроки составляли воробьинообразные (от 95,2% в зимний период до 96,4% в предгнездовой). В предгнездовой период доминировали дроздовые (371,5 особей/км², 22,4 %), синицевые (371,5 особей/км², 22,4 %) и вьюрковые (321,4 особей/км², 19,4 %). В гнездовой период доминирующими с несколько иным соотношением остались прежние группы: вьюрковые (407,2 особей/км², 22,4 %), синицевые (271,5 особей/км², 15,0 %) и дроздовые (264,2 особей/км², 14,4 %). Кроме них в эту группу вошли представители семейства славковые (385,7 особей/км², 21,1 %). В постгнездовой период лидирующее положение занимали те же семейства. Осенью ощутимо проявлялась ведущая роль синицевых (215,0 особей/км², 42,9 %). В группу доминирующих также входили вьюрковые (14,6 %) и дроздовые (11,7 %). В зимний период почти половину численной структуры орнитоценоза составляли синицевые (228,6 особей/км², 46,5 %). К доминантам в этот период также относились свиристелевые (20,5 %) и длиннохвостые синицы (10,3 %).

ВЛИЯНИЕ СИМБИОТРОФНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОРА В РАСТЕНИЯХ КЛЮКВЫ НА ЭТАПЕ *EX VITRO*

А. А. Мусатова, И. В. Стручкова, Е. В. Березина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
musatova.1994@inbox.ru

При наличии на корнях растений некоторых видов микроскопических грибов поступление фосфора в растительный организм значительно усиливается, что благотворно сказывается на его росте и развитии. Такой эффект особенно важен для растений *Oxycoccus* и других представителей семейства вересковые, лишенных корневых волосков и угнетаемых фосфорными удобрениями, прямо вносимыми в почву. В то же время, на один и тот же растительный вид разные виды и даже штаммы грибов оказывают сильно различающееся по величине и характеру воздействие.

Наше исследование имело целью установить степень влияния симбиотрофного гриба *Phialocephala fortinii* на поступление фосфора в сокультивируемые с ним молодые растения разных видов и сортов *Oxycoccus*, а также сравнить это влияние с аналогичным эффектом, вызываемым сапротрофным микромицетом *Trichoderma virens* VKM F-1117.

Изолят *P. fortinii* был выделен из корней дикорастущей *O. palustris*. Штамм *T. virens* был получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Грибы поддерживались на среде Чапека-Докса. Молодые растения *O. macrocarpus* сортов Ховес, Стивенс, Ранний черный и *O. palustris* формы 10 были получены методом микрклонального размножения на среде Андерсона.

О поступлении фосфора в растения судили по накоплению этого элемента в вегетативных органах саженцев клюквы после их пятимесячного и десятимесячного выращивания без грибного компонента («контроль») или в присутствии одного из грибных видов (мицелий вносили в стерильный торфяной грунт при пересадке в него растений, культивируемых ранее 3 месяца на среде Андерсона). Содержание общего фосфора определяли фосфорномолибденовым методом, рассчитывая на 1 г сухой массы растения.

Установлено, что темноцветный микромицет *P. fortinii* наиболее эффективно способствует поступлению фосфора в листья клюквы сорта Ранний черный (содержание фосфора 1862 мкг/г сухой массы) и в корни растений сорта Ховес (2024 мкг/г).

При сокультивировании с сапротрофным микромицетом *T. virens* сорт Ранний черный также оказался наиболее чувствительным к грибному воздействию. Для этого сорта содержание фосфора в листьях достигало 2725 мкг/г в присутствии *T. virens*. Наибольшее количество фосфора в корнях было обнаружено в варианте выращивания «форма 10 + *T. virens*» (2603 мкг/г).

Результаты исследования показали, что наиболее эффективно улучшают снабжение фосфором растений клюквы на этапе *ex vitro* сочетание сорта Ранний черный (*O. macrocarpus*) с *T. virens*, сорт Ховес (*O. macrocarpus*) с *P. fortinii*, форма 10 (*O. palustris*) с *T. virens*. Полученные результаты могут быть полезны при подборе грибного компонента для улучшения фосфорного питания разных сортов и видов *Oxycoccus*.

ЭФФЕКТЫ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЧРЕСКОЖНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ СПИННОГО МОЗГА НА АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ И ПУЛЬС У ОТНОСИТЕЛЬНО ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ

Э. Р. Мухаметова^{1, 2}, А. Д. Милицкова¹, Т. В. Балтина¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, НИЛ «Двигательная нейрореабилитация», 420015, Казань, ул. К. Маркса, 76; lviraqpg@gmail.com

²Университетская клиника, отделение неврологии, 420043, Казань, ул. Чехова, 1а

Ряд исследований на животных и человеке показали, что стимуляция спинного мозга на уровне грудного отдела позвоночника повышает артериальное давление. Целью данного исследования было определить эффекты длительной низкочастотной чрескожной электрической стимуляции спинного мозга на АД и ЧСС. В исследовании приняло участие 12 относительно здоровых испытуемых в возрасте $21 \pm 1,6$, из них 3 мужчин и 9 женщин. Все испытуемые оценивались однократно и в равных условиях. Электроды накладывались в межкостном пространстве на уровне Th11- Th12. Характеристики стимуляции: постоянная, частота – 0,5 Гц, 1 Гц, 3 Гц, 5 Гц; длительность – 0,2 мс, интенсивность – $60 \pm 8,3$ мА; продолжительность – 5 мин. Электростимуляция и оценка АД и ЧСС проводилась в положении стоя. Показатели АД и ЧСС регистрировались до и сразу после стимуляции. Общее число сессий 6: 1 – без стимуляции (1-я контрольная оценка), 2–5 со стимуляцией различной частоты и 6 – без стимуляции (2-я контрольная оценка). Более того, с целью исключения эффектов длительной статической нагрузки была проведена оценка контрольной группы (4 женщины) без стимуляции.

Низкочастотная стимуляция спинного мозга на уровне Th11–Th12 не имеет значимого влияния на показатели АД. Мы наблюдали повышение диастолического давления при стимуляции с частотой 5 Гц, однако, вторая контрольная сессия без стимуляции также показала подобное повышение диастолического давления. В то же время мы не отметили значимой динамики в показателях у контрольной группы. Показатели пульса не изменились достоверно в обеих группах. Полученные данные позволяют предположить, что длительная постоянная чрескожная стимуляция на уровне Th11–Th12 может вызвать повышение диастолического давления за счет повышения тонуса периферических сосудов.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГИДРОГЕЛЕВЫХ СКАФФОЛДОВ НА ОСНОВЕ ФИБРИНА И КОЛЛАГЕНА

П. А. Мухина¹, М. Н. Егорихина²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
polina19951512muhina@mail.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Одним из направлений тканевой инженерии являются скаффолд-технологии. Объектом исследования которых являются скаффолды – тканеинженерные конструкции (ТИК), созданные на основе природных или синтетических полимеров, предназначенные для восстановления повреждений тканей организма человека. Эффективность использования скаффолдов с целью регенерации поврежденных тканей организма зависит от многих параметров. При этом особое внимание уделяется структурной организации ТИК. Известно, что структура скаффолдов способна регулировать их физико-механические свойства и активность клеточных процессов, а так же оказывать влияние на развитие ангиогенеза в области имплантации скаффолда.

Объектом исследования являлись гидрогелевые скаффолды, изготовленные на основе - фибрина и коллагена. Для визуализации структуры гидрогелиевых скаффолдов использовали метод сканирующей электронной микроскопии (JEOL JSM-IT300LV). С целью определения оптимальной пробоподготовки образцов гидрогелиевых скаффолдов для исследования их структуры на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) с низковакуумной установкой были апробированы несколько видов подготовки образцов: дегидратация восходящими концентрациями этилового спирта, фиксация глутаровым альдегидом. Часть образцов не подвергались подготовке, а дегидратировались в вакуумной установке СЭМ. Для получения поперечного среза были использованы микротомное лезвие и обработка жидким азотом.

Показано, что образцы гидрогелиевых скаффолдов, которые были подвергнуты предварительной пробоподготовке с использованием спиртов и/или глутарового альдегида, имели признаки деформации. Так, классическая пробоподготовка с использованием спиртов и альдегида, используемая для оценки структуры скаффолдов на СЭМ с высоковакуумными установками, оказывала воздействие, при котором оценить структуру было невозможно. Образцы, фиксированные только альдегидом, имели сглаженную волокнистую структуру с искажениями. Образцы дегидратированные спиртами, имели небольшую деформацию волокон, что позволяло визуализировать характерную волокнистую структуру. Образцы без пробоподготовки, дегидратированные в низковакуумной установке СЭМ, не имели признаков деформации. Волокнистая структура скаффолдов не нарушалась, не деформировалась, хорошо прослеживалось направление волокон, их взаиморасположение и размеры. При исследовании поперечного среза образцов, полученного с использованием микротомного лезвия, хорошо визуализировалась волокнистая структура скаффолдов. При этом прослеживалась система взаимосвязанных пор и межпоровых пространств в отличие от образцов, которые для получения поперечного среза были обработаны жидким азотом.

Можно заключить, что пробоподготовки необходимые для исследований гидрогелиевых скаффолдов на СЭМ с высоковакуумной установкой вносят значительные искажения в структуру гидрогелиевого скаффолда и не являются обязательными для исследований его структурных характеристик на СЭМ с низковакуумной установкой, что позволяет сохранить и визуализировать внешнюю и внутреннюю архитектуру образцов. Получение поперечного среза с помощью микротомного лезвия является наименее разрушительным для внутренней структуры гидрогеля. Следует отметить, что для различных типов тканеинженерных конструкций целесообразно проводить подбор способов пробоподготовки не только в зависимости от материалов скаффолда, но и того, на каком оборудовании проводится анализ их структурной организации.

ЭКСПРЕССИЯ Fas И ICAM1 У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

Н. И. Мухранова

Научно-исследовательский центр молекулярной биологии и биомедицины Университета Лобачевского, 603005, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д; *reputwjdf59@yandex.ru*

Острый панкреатит (ОП) сопряжен с развитием системной воспалительной реакции организма и полиорганной недостаточности. Одними из ключевых молекул, отражающих развитие воспалительного процесса, являются Fas (CD95) и ICAM1 (CD54). Fas - трансмембранный гликозилированный протеин, который участвует в реализации апоптоза. Сверхэкспрессия Fas приводит к сокращению количества иммунных клеток, а ее снижение свидетельствует об аутоимунной патологии. Молекула межклеточной адгезии ICAM-1 принимает участие в миграции лейкоцитов. Повышенная экспрессия ICAM-1 характерна для активированных клеток и используется как маркер индукции воспалительных процессов на периферии и системного воспаления. В то же время, повышенный уровень растворимого ICAM-1 в периферической крови выполняет противовоспалительную функцию, уменьшая адгезию лейкоцитов и специфическую инфильтрацию лимфоцитов и моноцитов в очаг воспаления. Целью работы явилась оценка уровней экспрессии генов Fas и ICAM1 лейкоцитами периферической крови и определение сывороточного содержания этих белков у больных ОП.

Исследовали периферическую кровь 32 больных ОП и 30 волонтеров. Экспрессию генов детектировали с помощью мультиплексного варианта ОТ-ПЦР в реальном времени относительно мРНК гена домашнего хозяйства убиквитина С. Относительные уровни мРНК рассчитывали методом сравнения пороговых циклов с учетом эффективности реакции ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). Для определения сывороточного содержания исследовали сыворотку крови от 83 больных ОП и 63 доноров крови. Иммуноферментный анализ проводили с использованием моноклональных антител ИКО160 и ИКО184 против CD95 и CD54, соответственно. Результаты выражали в условных единицах. За 1000 у.е. принимали значение оптической плотности референсного образца. Полученные данные анализировались с использованием критерия Манна-Уитни.

Относительный уровень мРНК мембранной формы Fas в периферической крови больных ОП составил 0,47 (0,27–0,73), а у волонтеров – 0,55 (0,12–0,89). Сравнение относительных уровней мРНК мембранной формы Fas показало недостоверное снижение у больных ОП ($p=0,25$). Сывороточное содержание растворимого CD95 у больных ОП составило 267,5 у.е. (188,0–403,1). Достоверных различий в содержании sCD95 в группе пациентов и контрольной группе доноров (321,5 у.е. (233,4–419,0)) выявлено не было ($p=0,34$). Медиана относительного уровня мРНК ICAM1 у больных ОП составила 0,001 (0,0007–0,0030) и была в 50 раз ниже, чем в контрольной группе, однако различия были статистически не значимы ($p=0,19$). В сыворотке крови больных ОП установлено снижение содержания растворимой формы CD54 в 1,5 раза ($p=0,013$) в сравнении с контрольной группой.

Таким образом, в периферической крови больных ОП наблюдается снижение уровня экспрессии гена ICAM1 лейкоцитами периферической крови и снижение сывороточного содержания молекулы CD54. Данные изменения могут являться отражением выраженности воспалительных и компенсаторных реакций на фоне применения антибактериальных препаратов у больных ОП.

ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ В ОБЛАСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВА ВИБРИСС ПРИ ОТКЛОНЕНИИ ВИБРИСС В РАЗЛИЧНЫХ НАПРАВЛЕНИЯХ

А. Р. Насретдинов¹, М. Ю. Синцов¹, Д. Р. Ахметшина¹, Г. Р. Валеева¹, Р. Н. Хазипов^{1,2}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420012, Казань, ул. К. Маркса, 76;

AzRNasretdinov@kpfu.ru

²INMED-INSERM UMR1249, 13273, France, Marseille, avenue de Luminy BP13, 163

Нейроны области представительства вибрисс соматосенсорной коры грызунов реагируют на изменение параметров стимуляции вибрисс. Особый интерес для моделей предсказания представляют исследования по выявлению селективности нейронов при отклонении вибрисс в различных направлениях. В рамках данного исследования была проведена серия экспериментов на взрослых крысах (старше 30 дней). Регистрация локальных полевых потенциалов и множественных потенциалов действия проводилась с помощью 32-канальной пробы с конфигурацией, позволяющей проводить кластеризацию потенциалов действия. Протокол стимуляции вибрисс включал последовательности 1-секундных стимулов со случайными направлениями отклонения и высоким угловым разрешением (до 1 градуса). Анализ сенсорного ответа проводился по фронту и спаду каждого стимула. Мы обнаружили специфическую селективность нейронов соматосенсорной коры, выраженную в виде увеличения латентного периода, либо уменьшения вероятности возникновения потенциалов действия по мере удаления от преимущественного направления. Для апробации селективности была построена модель предсказания направления отклонения вибриссы по соответствующей последовательности кластеров, которая при перекрестной проверке показала коэффициент корреляции выше 0,9. Таким образом, предложенная модель позволяет исследовать эффекты сенсорного кодирования на уровне отдельных нейронов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-02083.

ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ СОЛОДКИ КАК ПРОДУЦЕНТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Е. А. Неугодникова, А. А. Ермошин

Уральский федеральный университет, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19;
liza.neugodnikowa@yandex.ru

Многие виды лекарственных растений в настоящее время находятся на грани уничтожения из-за неконтролируемого сбора населением. В лабораторных условиях возможно получать клеточные культуры данных растений с целью сохранения биоразнообразия, а также для получения клеточных линий-суперпродуцентов БАВ.

Цель нашей работы: изучить возможность получения клеточных культур нескольких генотипов из рода солодка, обитающих на Южном Урале. В качестве объекта исследования был выбран род *Glycyrrhiza*, так как, во-первых, растения данного рода признаются официальной медициной, как лекарственные, и представляют интерес с целью изучения содержания вторичных метаболитов, во-вторых, в нашем регионе представители данного рода занесены в региональные Красные книги (Тюменская и Курганская области).

В работе использовались 3 генотипа: предположительно солодки голой, солодки уральской, солодки Коржинского или их гибриды. Растения были любезно предоставлены Ботаническим садом УрО РАН, Екатеринбург.

Для введения в культуру в качестве первичного экспланта использовали листья, стебли и корневища. В ходе работы нами были отработаны условия стерилизации растительного материала солодки. Растительные экспланты подвергали стерилизации в 70% этиловом спирте, растворе деохлора и 0,2% сулеме. Растительный материал помещали на среду MS с добавлением 3% сахарозы, 10 мг/л НУК и 1 мг/л БАП.

Каллусные культуры удалось получить для двух генотипов, в качестве первичного экспланта выступали взрослые листья. Корневища и стебли не давали каллусную культуру в данных условиях и отмирали. Наибольшей скоростью роста и жизнеспособностью обладал каллус, полученный из гибрида солодки голой и солодки Коржинского. В настоящее время проводится изучение состава фенольных компонентов каллусной культуры и исходных интактных растений.

В официальной медицине основное внимание уделяется сапонинам корней и корневищ солодки, однако не используются фенольные соединения надземной массы. В ряде недавних работ показано, что флавоноиды травы солодки обладают противовирусным и противораковым действием, что и обусловило наш интерес к изучению культур, полученных из надземной массы.

ГИППОКАМПАЛЬНАЯ РИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГРЫЗУНОВ: ВЛИЯНИЕ ПИКРОТОКСИНА НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

И. Л. Новожиллов¹, Е. Д. Ивлев¹, А. А. Миронов^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
novozhilov@neuro.nnov.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Регистрация ритмической активности осуществлялась с помощью системы 5 channel wireless neural system производства Triangle BioSystems. Защитная «шапочка» была распечатана на 3D принтере и оклеена с внутренней стороны самоклеящейся медной фольгой с припаянной серебряной проволокой с тефлоновой изоляцией для заземления. Также нововведением в нашей конструкции является отсутствие съемной крышки в шапочке для доступа к коннектору платы, вместо которой нами было сделано специальное отверстие для коннектора. 5 электродов различной длины (30 мм, 35 мм, 40 мм, 45 мм, 50 мм), с шагом 15 мкм для погружения в различные слои гиппокампа, выполненные из вольфрамовой проволоки (Ø 112 мкм) с тефлоновой изоляцией, помещалась в трубку длиной 5 мм (Ø 330 мкм) из нержавеющей стали.

Перед нами стояла задача отработать методику изучения двигательной активности грызунов под влиянием малых концентраций пикротоксина. Пикротоксин является антагонистом ГАМК. Таким образом, пикротоксин способен влиять на синхронизацию цепи и, как следствие, на двигательную активность и когнитивные способности животных. Теоретически, введение малых концентраций пикротоксина должно вызвать блокаду внесинаптических ГАМК-рецепторов не затрагивая при этом синаптические, что, в свою очередь, может вызвать краткосрочное усиление когнитивных способностей животных. В качестве объекта исследования использовались двух-трех месячные мыши линии C57BL/6, самцы, массой 28–31 г. Регистрация двигательной активности осуществлялась с помощью инфракрасного актиметра. Также проводились тесты в Т-лабиринте (изучение памяти). Инъекции пикротоксина проводились локально, при помощи имплантированных канюль, в гиппокампальную область мозга животных. Канюли изготавливались из трубок из нержавеющей стали, длиной 5 мм (Ø 508 мкм), которые закрывались г-образными заглушками, изготовленными из игл инсулинового шприца. Система представляет собой цилиндрическое основание с крышкой («шапка»), изготовленных на 3D принтере из пластика. Мышь анестезировалась 1–3% изофлюраном, поставляемым в виде смеси с O₂ через изофлюрановый vaporizer. Производилась имплантация и фиксация канюль в крышке черепа. На следующем этапе фиксировался постамент «шапки» с помощью стоматологического цемента. В ходе работы нами был разработан оригинальный дизайн системы для ведения хронического эксперимента.

Полученные нами предварительные данные свидетельствуют об усилении двигательной активности животных, при применении малых концентраций пикротоксина.

СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И МЫШЬЯКА В ПОЧВАХ ПОЛИГОНА ТВЕРДЫХ БЫТОВЫХ ОТХОДОВ

И. В. Новоселова, Е. С. Закамская

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
novoselova1696@mail.ru

Неотъемлемой частью техносферы являются функционирующие полигоны твердых бытовых отходов, что приводит к накоплению загрязняющих веществ, в том числе и высокотоксичных, миграции их в почвы, грунтовые воды и поверхностные водные источники. Целью работы явилось изучение накопления тяжелых металлов и мышьяка на полигоне твердых бытовых отходов.

Исследования проводились в мае-июне 2017 г. на базе ФГУ «ЦЛАТИ по ПФО». Отбор почвенных проб был произведен с пробных площадок: с полигона складирования твердых бытовых отходов (ТБО) и санитарно-защитных зон (СЗЗ). В почвенных образцах определяли подвижные и валовые формы тяжелых металлов и мышьяка, относящихся к первому и второму классам опасности. Определение массовой доли металлов осуществляли методом рентгенфлуоресцентного анализа (ПНД ф 16.1.42-04), мышьяка (РД 52.18.571-2011).

В ходе работы были получены следующие результаты. В почве СЗЗ полигона ТБО содержание свинца составляет 30,8–31,7 мг/кг, цинка – 7–8 мг/кг, никеля – 4,8–5,1 мг/кг. Содержание этих тяжелых металлов в почве территории складирования полигона ТБО составляет 70,9; 116,9; 6,3 мг/кг соответственно. Содержание мышьяка в почве СЗЗ варьирует от 6,4 до 9,6 мг/кг, в почве территории складирования – 13,2 мг/кг. Относительно установленных ПДК на территории складирования полигона ТБО наблюдается превышение нормативов по всем изученным веществам, за исключением меди. Содержание подвижных форм меди во всех почвенных образцах невелико и ниже предельной концентрации обнаружения. На территории СЗЗ имеется превышение содержания мышьяка и никеля.

Нами рассчитан суммарный показатель загрязнения, который является комплексной оценкой загрязнения. На территории складирования полигона ТБО он составил 13,53; на санитарно-защитной зоне варьирует от 2,10 до 3,79, что по ориентировочной оценочной шкале опасности загрязнения почв по суммарному показателю загрязнения позволяет относить рассматриваемые почвы к категории допустимого загрязнения.

ВЛИЯНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПРИДОРОЖНЫХ ПОЛОС НА СНИЖЕНИЕ ШУМА ВБЛИЗИ АВТОМОБИЛЬНЫХ ДОРОГ Г. ЙОШКАР-ОЛЫ

Е. С. Овчинникова, Е. А. Алябышева

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
ElenkaOni@yandex.ru

На современном этапе уровень антропогенного воздействия на окружающую среду постоянно растет. Одной из главных проблем является увеличение количества наземного транспорта. Ранее построенные дороги не рассчитаны на современное количество машин, дорожное покрытие зачастую нуждается в капитальном ремонте, поэтому возникающая акустическая обстановка превышает предельно допустимые нормы. Шум достигает значений, которые создают дискомфортную обстановку для организма людей и животных, отрицательно влияет на их здоровье. Одной из мер защиты территорий населенных пунктов от шумов, возникающих на автомобильных дорогах, является использование зеленых насаждений. Озеленение автомобильных дорог разделяют на два основных вида: защитное озеленение и декоративное озеленение. К защитному озеленению относят: противоэрозионное озеленение, снегозащитное озеленение, пескозащитное озеленение, шумо-газо-пылезащитное озеленение. К декоративному относят озеленение, используемое для архитектурно-художественного оформления автомобильных дорог.

Целью нашей работы являлось оценка параметров придорожных полос, оказывающих влияние на снижение шумового загрязнения вдоль городских автомобильных дорог.

Исследования проводили в июне-сентябре 2017 г. на территории Йошкар-Олы на двух магистральных улицах общегородского назначения (Ленский проспект, проспект Гагарина) с 16 до 17 часов. Уровень шума (дБА) измеряли прибором «CENTER 325».

В ходе работы было установлено, что интенсивность автопотока на проспекте Гагарина составляла (680,0–743,0 авт./ч), а на Ленинском проспекте 1590,0–2261,0 авт./ч. Ленинский проспект является центральной магистралью общегородского значения и проходит практически через весь город, переходя в ул. Лебедева, которая в свою очередь ведет к выезду из города на федеральную трассу А-295.

Различные виды древесных растений характеризуются разной способностью к защите от воздействия шума. При размещении древесных насаждений с учетом звукоотражательных свойств отдельных растений достигается наилучший эффект в снижении шума. Как показали результаты наших исследований, ширина придорожных полос составляла 7–8 м при норме не менее 10 м. Форма поперечного профиля защитной полосы имела форму прямоугольника. Удельный вес зеленых насаждений, произрастающих вблизи магистралей, составлял 20–21%, что ниже принятых норм (не менее 25%). Придорожные полосы на проспекте Гагарина имели полуоткрытый тип пространственной структуры, характеризующийся сомкнутостью полога от 0,4 до 0,6. Зеленые насаждения на Ленинском проспекте характеризовались сомкнутостью полога от 0,2 до 0,3. На проспекте Гагарина однорядные посадки *Tilia cordata* (плотность кроны 40–60%) снижали уровень шума в среднем на 2,4 дБА. Однорядные посадки *Populus sibirica pyramidalis* (плотность кроны 75–85%) на Ленинском проспекте снижали уровень шума в среднем на 5,9 дБА. Однофакторный дисперсионный анализ подтвердил статистически значимое влияние фактора – плотность кроны на уровень снижения шума ($F=5,059$; $p=0,0411$). То есть, при густом озеленении обеспечивается не только экранирующий эффект, но и создается дополнительное шумогашение за счет поглощения и отражения звука внутри зеленой массы.

Таким образом, для повышения шумозащитных функций придорожных полос, необходимо организовать многорядную посадку древесно-кустарниковых пород. При подборе пород деревьев, для создания шумо-газо-пылезащитной зеленой полосы, необходимо учитывать их устойчивость к действию выхлопных газов автомобилей. Форма поперечного профиля защитной полосы должна иметь форму треугольника с более пологой стороной, обращенной к источнику загрязнения (т.е. к проезжей части дороги).

УСТОЙЧИВОСТЬ ШТАММА *BACILLUS LICHENIFORMIS*-24, ВЫДЕЛЕННОГО С МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ, К ДЕЙСТВИЮ ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИХ ФАКТОРОВ

П. Д. Осипова^{1,3}, А. И. Домашин², Д. С. Карнов¹, М. И. Котлов¹, А. А. Гуридов²,
С. В. Киселева^{1,4}

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32; osipova.pamila@yandex.ru

²Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76А

³Российский университет дружбы народов, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 10/2

⁴Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

Бактерии рода *Bacillus* имеют большое значение в жизнедеятельности человека. Штаммы бактерий *Bacillus* используются в ветеринарии, медицине и различных отраслях промышленности, как пробиотики, сверхпродуценты иммуноактивных факторов, ферментов, аминокислот, и витаминов. Споры представителей рода *Bacillus* известны также своей устойчивостью к различным экстремальным условиям.

В институте медико-биологических проблем проводятся многолетние исследования состава микробиома международных космических станций. Среди обнаруживаемых видов довольно часто встречаются представители рода *Bacillus*. Один из таких штаммов *B. licheniformis*-24 был выделен в ходе 24 экспедиции на МКС. Нами проведена повторная идентификация штамма путем секвенирования рибосомного локуса и MALDI-TOF анализа. Поскольку уровень радиации на МКС примерно в 100 раз превышает фоновый уровень радиации у поверхности Земли, это должно способствовать выживанию и распространению на МКС организмов с высокоактивными системами ответа на повреждение ДНК.

Цель работы – определить устойчивость штамма *B. licheniformis*-24 к действию ДНК-повреждающих факторов и определение уровня экспрессии генов различных систем репарации ДНК. Нами исследована устойчивость *B. licheniformis*-24 к облучению ультрафиолетом с длиной волны 320 нм и способность к росту в присутствии различных генотоксических соединений, вызывающих повреждение ДНК: MMS, 4-NQO, зеоцин. Кроме того, мы впервые определили уровни экспрессии генов, кодирующих Ku и LigD ключевые компоненты системы репарации ДНК путем соединения негомологичных концов, а также уровни экспрессии генов других систем репарации ДНК. В качестве отрицательного контроля использовали штамм *B. licheniformis* В10956 из коллекции ВКПМ.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что штамм *B. licheniformis*-24 гораздо более устойчив к действию ДНК-повреждающих факторов, чем земной штамм *B. licheniformis*, и это ассоциировано с измененным профилем экспрессии генов репарации ДНК.

ОЦЕНКА РЕКРЕАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛЕСНЫХ ГЕОСИСТЕМ ЛЕВОБЕРЕЖНОЙ ЧАСТИ ВОРОТЫНСКОГО РАЙОНА НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Т. В. Осипова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tanusha.osi7@yandex.ru

В связи с ростом городского населения и сокращением площади лесов под натиском индустрии проблема рекреационного лесопользования становится с каждым годом все актуальнее. Одной из главных целей является оценка рекреационного потенциала, т.е. меры возможности выполнения лесом рекреационных функций, обусловленной его природными свойствами.

Объектом исследований являются геосистемы левобережной части Воротынского района Нижегородской области. Они подвергаются значительным рекреационным воздействиям со стороны прилегающих населенных пунктов. Исследованы были 5 лесных массивов, 2 из которых находятся в отдалении от населенных пунктов, а 3 располагаются непосредственно близ с. Каменка. Для осуществления поставленной цели проводились геоботанические описания и применялся ряд методов для наиболее полной оценки современного состояния геосистем, а также были применены методики для оценки рекреационного потенциала. Закладывались пробные площади 20×20 м. Для каждого дерева определялись окружность ствола, высота, возраст, категория состояния и фаутиность. Так же закладывались трансекты для количественной оценки состояния подроста и подлеска. Для характеристики травянистого яруса закладывалось по 10 площадок 1×1 м.

По методике С. Л. Рысина было выявлено, что геосистемы лесных массивов № 1 и № 2 относятся ко 2 классу рекреационной ценности, а у остальных лесных массивов она ниже (3 класс). По коэффициенту устойчивости древесные насаждения массивов № 1, 2 и 4 относятся к очень высокой категории качества, массив № 5 – к высокой, а массив № 1 – к средней. По коэффициенту комфортности геосистемы лесных массивов №1, 2 и 3 относятся к очень высокой категории качества, а массивы № 4 и 5 – к высокой. По коэффициенту привлекательности лесные массивы № 1 и 2 относятся к высокой категории качества, а остальные массивы – к средней.

Результаты рекреационной оценки геосистем по В. Д. Пряжину и В. Т. Николаенко показали, что эстетическая оценка лесных массивов № 3 и 5 оценивается пятью баллами, т.е. данная территория имеет высокую эстетическую оценку, оценку чуть ниже (4 балла) – лесные массивы № 2 и 4, а лесной массив № 3 имеет более низкую оценку, что говорит о его меньшей комфортности.

По методике А. И. Тарасова лесной массив № 2 по рекреационной ценности можно отнести к превосходному объекту, это доказывает еще и то, что на данной территории располагается база отдыха, лесной массив № 5 – к хорошему объекту, а лесные массивы № 1, 3 и 4 – к удовлетворительным объектам.

Также был проведен статистический анализ с использованием критерия Данна, в результате получилось, что статистически значимые различия между рекреационными лесными массивами наблюдаются по 9 показателям, таким как СБОД, фаутиность, стадии дигрессии, мощность лесной подстилки, проективное покрытие нелесными видами, коэффициент привлекательности и комфортности, а также оценка по методике В. Д. Пряжина и В. Т. Николаенко и по методике А. И. Тарасова.

В результате оценки рекреационного потенциала по различным методикам выяснено, что лесной массив № 2 имеет наивысшую рекреационную ценность, т.е. имеет наибольший рекреационный потенциал.

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИНФЛАММАСОМ В CD3+ И CD14+ ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Е. В. Охезин¹, Е. Е. Гаранина¹, М. О. Гомзикова¹, В. Г. Шакирова², А. А. Ризванов¹, С. Ф. Хайбуллина^{1,3}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *oe-74@mail.ru*

²Казанская государственная медицинская академия, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 36

³Невадский центр биомедицинских исследований, Рено, США

Хантавирусы относятся к семейству *Bunyaviridae* и являются возбудителями таких заболеваний, как геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, хантавирусный легочный синдром в зависимости от штамма. Учитывая распространенность вирусных геморрагических лихорадок в России и за рубежом, изучение молекулярных механизмов патогенеза хантавирусной инфекции весьма актуально. Инфламмасома (от англ. inflammation, воспаление) представляет собой особый белковый комплекс в макрофагах и нейтрофилах, который приводит к запуску воспалительной реакции при контакте клетки с микроорганизмами, а также играет важную роль в системе врожденного иммунитета. К CD3+ клеткам относят Т-лимфоциты, а именно цитотоксические наивные Т-клетки (CD8 + Т-клетки), а также Т-хелперы (CD4 + Т-клетки). CD14+ является маркером макрофагов, а также нейтрофилов и дендритных клеток. Цель работы – исследование экспрессии генов инфламмосом CD3+ и CD14+ позитивных клеток в ответ на хантавирусную инфекцию, а именно *Il-1β* (интерлейкин-1-β), *casp1* (каспаза 1), *casp8* (каспаза 8), *NALP3* (криопорин), *Puuv* (нуклеокапсидный белок вируса Пуумала).

Образцы крови пациентов с диагнозом ГЛПС были получены из Республиканской клинической инфекционной больницы им. проф. А.Ф. Агафонова, Казань. Выделение мононуклеарных клеток крови производилось в градиенте плотности, фиколла (1,077 г/см³) по стандартному протоколу. Разделение лимфоцитов на субпопуляции осуществлялось при помощи проточной цитофлуориметрии с применением специфичных к CD3 и CD14 маркерам флуоресцентных меченых антител.

Образцы тотальной РНК из клеточной суспензии выделяли по стандартному протоколу с использованием реагента PureZol (BioRad). Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием 200U обратной транскриптазы Revertaid Reverse Transcriptase (Thermoscientific), 20U ингибитора РНКаз и 100 нг тотальной РНК. Количественную оценку экспрессии генов осуществляли посредством ПЦР в реальном времени с использованием ген специфичных праймеров. Нормализацию экспрессии генов проводили по гену GAPDH (Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа). Серийное разведение комплементарной ДНК использовали для построения стандартной кривой и определения уровня экспрессии гена. В качестве контроля использовали образцы клеток человека, не страдающего ГЛПС и другими инфекционными заболеваниями.

В результате исследования было показано многократное увеличение экспрессии интерлейкина β в 26, каспазы 1 в 33, каспазы 8 в 23, криопорина в 60 и N белка Пуумала вируса в 155 раз в CD3+ клетках по сравнению с контролем, в то время как в CD14+ не было показано статистически достоверной разницы. Таким образом, можно предположить, что при хантавирусной инфекции активация инфламмосом и вирусная репликация происходит в CD3+ клетках.

СПЕЦИФИЧНОЕ АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНОГО 2(5H)-ФУРАНОНА НА *BACILLUS CEREUS*

А. С. Павлова, И. С. Шарафутдинов, А. М. Хабибрахманова, А. Р. Курбангалиева, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
AnBio96@yandex.ru

Инфекции, вызванные грамположительными бактериями, остаются серьезной проблемой в сфере здравоохранения. Приобретение бактериями устойчивости к антибиотикам приводит к необходимости поиска новых антимикробных препаратов. *Bacillus cereus* – широко известный микроорганизм, встречающийся во всех эконишах. Он может вызывать как пищевые отравления, так и раневые инфекции, бактериемию, септицемию или пневмонию. Устойчивость *B. cereus* обычно обусловлена их способностью производить бета-лактамазы, однако некоторые штаммы могут также проявлять устойчивость к хлорамфениколу или тетрациклину. Способность *B. cereus* образовывать прочные биопленки как на естественных, так и на искусственных поверхностях значительно повышает устойчивость *B. cereus* к различным внешним факторам. Использование антибиотиков с агентами, ингибирующими образование бактериальных биопленок, предстает многообещающей стратегией, и в этом свете фураноны являются весьма интересными кандидатами. В этой работе мы провели анализ производного 2(5H)-фуранона (Ф123), который эффективно ингибирует рост и образование биопленки *B. cereus*.

Минимальная подавляющая концентрация (МПК) исследуемого фуранона оказалась равной 8 мкг/мл для *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus* и *B. cereus*, тогда как для *B. subtilis* МПК был равен 16 мкг/мл. Все изучаемые грамотрицательные бактерии, такие как *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* оказались невосприимчивыми к соединению. Интересно отметить, что минимальная бактерицидная концентрация (МБК) для фуранона была обнаружена только на бактериях *B. cereus* и была равна значению ее МПК. Минимальные подавляющие концентрации биопленки (МБПК) были определены путем окрашивания кристаллическим фиолетовым остаточных биопленок. Для *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus* и *B. subtilis* МБПК соответствовали их значениям МПК. Значительная способность Ф123 влиять на клетки в составе зрелой биопленки была обнаружена только на *B. cereus*. Ф123 уменьшил количество КОЕ *B. cereus* находящихся в биопленке на 2 порядка в концентрации 64 мкг/мл, тогда как для *B. subtilis* концентрация Ф123 была выше, сохранив тенденцию специфического воздействия на клетки *B. cereus*.

Мы сравнили кинетические кривые гибели клеток грамположительных бактерий *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *B. cereus* и грамотрицательной бактерии *E. coli* в качестве контроля. Ф123 показал бактериостатические свойства при концентрации 4 МПК против *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* и *B. subtilis*. Уникальным является то, что Ф123 проявил избирательное действие по отношению к клеткам *B. cereus*, убив все бактерии в течение 8 часов. Будучи таким бактерицидным соединением, избирательно действующим только на *B. cereus*, Ф123 мог бы найти свое применение в соответствующих областях, где необходимо предотвращать или уничтожать специфические для *B. cereus* загрязнения, например, в пищевой промышленности или в глазных инфекциях.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 15-14-00046.

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОБНАРУЖЕНИЯ МИКРОСТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОДТИПОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МЕТОДОМ МУЛЬТИМОДАЛЬНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ
***Н. П. Павлова*^{1,2}, *Е. В. Губарькова*², *М. А. Сироткина*², *Д. А. Воронцов*⁴, *А. А. Мусеев*³,
*А. А. Плеханов*², *С. С. Кузнецов*², *А. Ю. Воронцов*⁴, *Н. Д. Гладкова*²**

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
pavlovanp@yandex.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

⁴Нижегородская областная клиническая больница им. Н. А. Семашко, 603126, Нижний Новгород, Родионова, 190/5

Метод оптической когерентной томографии (ОКТ) относится к перспективным высокоразрешающим методам оптической визуализации в реальном времени рака молочной железы (РМЖ) для дифференциации нормальной и опухолевой ткани молочной железы с целью точного определения интраоперационного края резекции. Кроме того, существует сложность дифференциальной диагностики подтипов РМЖ, которая связана с тем, что опухоль имеет широкую морфологическую гетерогенность, обусловленную состоянием микроструктуры клеточного и стромального компонента ткани, что может отражаться на оптических свойствах ткани опухоли. Целью работы являлась разработка ОКТ критериев дифференциальной диагностики опухолевой и нормальной ткани молочной железы на основе изучения их рассеивающих, поляризационных и упругих свойств, выявляющих прогностически неблагоприятные подтипы РМЖ.

ОКТ исследование проводилось с использованием хирургических *ex vivo* послеоперационных образцов ткани молочной железы от пациенток (в возрасте от 38-77 лет), которые были классифицированы на основании гистологического и иммуногистологического (ИГХ) диагноза рецепторного статуса РМЖ пациента.

В исследовании использовалась скоростная спектральная мультимодальная (ММ) ОКТ система (БиоМедТех, Нижний Новгород, Россия) с центральной длиной волны 1310 нм, мощностью излучения 20 мВт, поперечным пространственным разрешением ~15 мкм, разрешением по глубине ~10 мкм, глубиной сканирования ~1,5 мм и скоростью сканирования 20 000 А-сканов/сек. Система способна к кросс-поляризации для визуализации состояния компонента соединительной ткани и фазочувствительной ОКТ-эластографии для визуализации упругих свойств ткани.

ММ ОКТ позволяет как по качественному, так и по количественному анализу микроструктурных и упругих свойств ткани дифференцировать инфильтрирующий/неинфильтрирующий неспецифический подтип РМЖ, фиброаденому и нормальную ткань молочной железы. Количественная оценка кросс-поляризационных и эластографических ОКТ изображений показала более гетерогенный характер распределения ОКТ сигнала с низким уровнем обратного рассеяния в кросс-поляризационном канале и высоким модулем упругости для подтипов РМЖ с неблагоприятным прогнозом (люминальный В и трижды негативный) по сравнению с РМЖ имеющим более благоприятный прогноз течения заболевания (люминальный А типы).

Таким образом, метод ММ ОКТ по рассеивающим, поляризационным и упругим свойствам ткани молочной железы позволяет как качественно, так и количественно отличать доброкачественные и злокачественные новообразования ткани молочной железы человека, а также выделять подтипы РМЖ с неблагоприятным прогнозом течением заболевания, что является важным прогностическим фактором в выборе тактики лечения пациентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых ученых № МК-905.2017.7 и гранта РФФИ № 18-32-00608_мол-а.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕКИСНЫХ ПРОЦЕССОВ И УСТОЙЧИВОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРЕСМЫКАЮЩИХСЯ И ПТИЦ

А. С. Пайгачкина, О. В. Попова, Е. В. Фурашова, Н. С. Хорошавина

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
payga4kina.a@yandex.ru

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в любом здоровом организме сравнительно низкий и направлен на обновление мембранных структур клетки. Как и при любых других процессах, существуют факторы, инициирующие ПОЛ при длительном воздействии на организм. Эти факторы приводят к изменению интенсивности ПОЛ в организме, что приводит к развитию различных патологий. Показателями, характеризующими ПОЛ, являются содержание диеновых конъюгатов, малонового диальдегида (МДА) и оснований Шиффа в плазме крови, а также в клетках и органеллах, непосредственно участвующих в транспорте кислорода и его метаболическом использовании, таких как эритроциты и митохондрии.

Согласно литературным данным организм птиц более подвержен ПОЛ при высокой интенсивности их роста. Интересным является факт, что на процессы ПОЛ влияет живая масса птиц. Безусловно, на уровень перекисных процессов также влияет рацион питания, особенно данный фактор имеет значение для сельскохозяйственной птицы. Кроме того, уровень перекисной окисления липидов снижается при включении в рацион питания веществ, усиливающих работу антиоксидантной системы. К таким веществам относят, например, селен, α -токоферол, дигидроэтоксихин, цитрат лития и другие. Для диких птиц и животных важными факторами вероятно будут являться также пищевой рацион, условия обитания, особенно температура, а также поступление из окружающей среды в организм различных веществ – модуляторов антиоксидантной активности организма.

Как известно, у пресмыкающихся наблюдается способность к гибернации, что дает больший интерес к изучению процессов ПОЛ. Период до и после гибернации характеризуются различными биохимическими, физиологическими, морфологическими и поведенческими изменениями у пресмыкающихся. До спячки уменьшается активность ферментов, наблюдаются изменения в мембране и, следовательно, изменение активности процессов ПОЛ, а именно ее уменьшение. После гибернации организм просыпается, а, следовательно, и все процессы в организме возобновляются. Начинает образовываться больше активных форм кислорода, что ведет к последующему усилению интенсивности ПОЛ. Антиоксидантная система начинает работать позднее, что ведет к тому, что уровень интенсивности перекисных процессов становится больше, чем до спячки.

Целью исследования было сравнить интенсивность перекисных процессов в эритроцитах птиц разных видов, как диких, так и сельскохозяйственного назначения, а также у пресмыкающихся, содержащихся в стандартных условиях террариума и введенных в состояние гибернации. Красные кровяные клетки – это, пожалуй, первое звено, которое в связи со своей функцией в организме, является важным участником активации и протекания перекисных процессов и реагирующее на них изменением своих характеристик. Для достижения поставленной цели анализировали такие показатели как содержание МДА в эритроцитах, сорбционную способность эритроцитов и осмотическую стойкость эритроцитов по уровню их гемолиза в растворах NaCl разной концентрации. Для этого проводили выделение эритроцитов, трижды отмывали изотоническим раствором и далее работали с суспензией отмытых эритроцитов, незамедлительно оценивая перечисленные выше характеристики. Опираясь на полученные результаты, можно заключить, что уровень МДА оказался несколько выше в эритроцитах пресмыкающихся. Кроме того, у уже в состоянии гибернации уровень этого маркера перекисной окисления липидов оказался несколько ниже, чем у уже, находившихся в активном состоянии.

ВЫЯВЛЕНИЕ КЛЮЧЕВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ГИППОКАМПА МЫШИ В ОТВЕТ НА РАЗРУШЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

В. И. Перишин^{1,2}, А. Н. Балашова¹, Е. Л. Гурьев^{1,2}, Л. К. Курбатов³, М. Р. Гайнуллин^{2,4}, И. В. Мухина^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23; *bp1995@yandex.ru*

²Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603950, ГСП-470, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10/8

⁴Университетский госпиталь Осло, Р. О. Вох 4950 Nydalen N-0424, Осло, Норвегия

Нарушение структуры внеклеточного матрикса (ВКМ) мозга, возникающие при травмах мозга, нейроинфекционных, нейрососудистых и нейродегенеративных заболеваниях может спровоцировать изменение пластических свойств нейронных сетей, что сказывается на высших когнитивных функциях ЦНС, таких как: память, обучение, внимание и т.д. Транскриптомный анализ позволяет проводить скрининг изменения экспрессии всех генов одновременно и выявлять возможные сигнальные пути, обуславливающие изменение метаболизма и функции клеток в ответ на разрушение внеклеточного матрикса мозга.

Целью данной работы было выявление ключевых функциональных изменений в экспрессии генов клеток ткани гиппокампа мыши в ответ на разрушение внеклеточного матрикса мозга. Для этого дифференциальная экспрессия генов была исследована методом двухцветной конкурентной гибридизации флуоресцентно меченой рРНК на микрочипах фирмы Agilent, включающих гены полного генома мыши. Проведенный транскриптомный анализ выявил 806 статистически-значимых дифференциально экспрессирующихся гена ($p < 0,05$). Затем, на основании функциональной аннотации была проведена кластеризация дифференциально экспрессирующихся генов. В результате были выявлены 5 кластеров с наиболее высоким значением «показателя концентрации», объединяющие гены, структурно и функционально связанные с 1) синаптической передачей, 2) нейродифференциацией и процессом нейрогенеза, 3) процессами связывания актина, 4) циркадными ритмами, 5) процессами убиквитинирования.

Таким образом, белки, структурно и функционально связанные с синаптической передачей, и гены, их кодирующие, в наибольшей степени подвержены регуляторному воздействию в условиях моделирования эпилептогенеза *in vivo*. Также, исходя из полученных данных, можно сделать вывод о широком спектре функциональной активности клеток ткани гиппокампа в ответ на изменение структуры внеклеточного матрикса при моделировании изменения активности нейронных сетей гиппокампа *in vivo*.

Работа поддержана грантом РФФИ (проект № 16-04-01763).

МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ЦИТОПЛАЗМЕ И МИТОХОНДРИЯХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В ОТВЕТ НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Н. Н. Пескова, А. А. Горохова, Н. Ю. Шилягина, А. Б. Костюк, А. А. Брилкина, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nin-22@yandex.ru

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является интенсивно развивающимся методом диагностики и лечения злокачественных новообразований, основанным на избирательном накоплении в опухолевой ткани фотосенсибилизатора (ФС), способного при локальном воздействии света с длиной волны, соответствующей его максимуму поглощения, генерировать цитотоксические агенты, вызывающие гибель опухолевых клеток. Для повышения эффективности поражения злокачественных клеток и защиты окружающих нормальных тканей необходимо всестороннее изучение молекулярно-клеточных процессов, протекающих при фотодинамическом воздействии. Особый интерес вызывает исследование роли пероксида водорода, как основного эффектора фотодинамической реакции, а также участника внутриклеточных сигнальных каскадов. Целью данной работы являлось изучение динамики продукции пероксида водорода в различных клеточных компартментах в ответ на фотодинамическое воздействие в режиме реального времени.

Ранее с использованием родительской клеточной линии A431 (эпидермоидная карцинома человека) нами были получены стабильно трансфицированные клеточные линии с экспрессией сенсора НуРег в митохондриях и цитоплазме клеток. Спектр возбуждения флуоресценции НуРег чувствителен к содержанию H_2O_2 , что может быть использовано для ратиометрического определения концентрации последнего. В качестве параметра, характеризующего содержание пероксида водорода, нами определялось отношение регистрируемого сигнала флуоресценции НуРег при разных длинах волн возбуждения (I_{488}/I_{405}). В качестве ФС в работе использовался препарат фталоцианинового ряда Фотосенс® (ФГУП ГНЦ "НИОПИК", Россия). С целью фотодинамического воздействия клетки кратковременно (секунды) облучались в дозах 15, 25 и 50 Дж/см².

Количественная оценка флуоресцентных изображений показала исходно более высокое значение отношений I_{488}/I_{405} в митохондриях по сравнению с цитоплазмой. Фотодинамическое воздействие приводило увеличению содержания H_2O_2 как в цитоплазме, так и в митохондриях облученных клеток. При этом рост содержания пероксида водорода в течение сравнительно длительного времени после облучения позволяет говорить о его продукции в ходе вторичных процессов, развивающихся как следствие фотодинамического воздействия. Необходимо отметить, что в митохондриях увеличение концентрации H_2O_2 зарегистрировано позже, чем в цитоплазме. Для клеток с экспрессией НуРег в цитоплазме показано, что при уменьшении дозы облучения появляется латентный период между облучением и регистрируемым ответом. При облучении в дозе 50 Дж/см² ответ наступает практически сразу (4–12 минут), при дозе в 25 Дж/см² статистически значимое увеличение концентрации H_2O_2 наблюдается через 20–32 минут, а при 15 Дж/см² интервал между облучением и ответом увеличивается до 60–90 минут. Показано, что изменение I_{488}/I_{405} не связано с возможным изменением рН в клетках. Присутствие в среде синтетического антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина ингибирует накопление H_2O_2 и приводит к повышению жизнеспособности облученных клеток.

Таким образом, фотодинамическое воздействие сопровождается вторичной продукцией H_2O_2 , которая, по-видимому, играет важную роль в реализации гибели клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (договор № 14.Z50.31.0022) и РФФИ (проект 16-04-01676).

АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM*) ГЕНАМИ *HyPer* И *Pt-GFP*

А. А. Печёрина, М. Н. Азеева, Т. А. Здобнова, А. А. Брилкина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ihmmtatb@yandex.ru

Определение изменения концентрации вторичных мессенджеров и уровня pH в растительной клетке при действии стимулов различной природы может проводиться с помощью генетически кодируемых сенсоров (ГКС). Эти сенсоры в большинстве своем флуоресцентные, многие из них созданы на основе белка GFP, свойства которого зависят от pH среды. С помощью таких сенсоров возможна визуализация динамических изменений уровня pH, H₂O₂ и других молекул в целом растении. Цель данной работы состоит в создании модельных растений картофеля, экспрессирующих pH-чувствительный сенсор *Pt-GFP* и H₂O₂-чувствительный сенсор *HyPer*.

Картофель (*Solanum tuberosum*) является ценной сельскохозяйственной культурой и важным объектом физиологии растений. Для успешной трансформации требуется отработка наиболее продуктивных биотехнологических методик для каждого сорта с целью получения наибольшего количества трансформированных растений-регенерантов.

Отбор подходящих для генетической трансформации сортов и вариантов экспланта картофеля проводился среди пяти сортов: Ред Скарлет, Удача, Триумф, Ирбитский и Невский. Этот отбор осуществлялся путём индукции органогенеза на листовых и стеблевых эксплантах растений этих сортов на гормон-содержащих питательных средах по прописи Мурасиге и Скуга (МС) с различными концентрациями фитогормонов 6-БАП (1-3 мг/л), ИУК (0-0,5 мг/л) и НУК (0-0,5 мг/л). Выявлено, что наиболее успешно органогенез проходил на стеблевых эксплантах растений картофеля сортов Невский и Ирбитский на питательной среде МС 3В/0,5I, содержащей 6-БАП (3 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л).

Следующим этапом была проверка устойчивости картофеля к цефотаксиму – антибиотику, используемому для гибели агробактерий после кокультивирования. Для этого использовались сорта, тип эксплантов и питательная среда, которые были отобраны для индукции органогенеза. Было выяснено, что агробактерии погибали на среде с цефотаксимом с концентрацией выше 200 мкг/л. При этом, для прохождения органогенеза на стеблевых эксплантах картофеля наиболее эффективной концентрацией цефотаксима, для сорта Ирбитский оказалась концентрация 300 мкг/л, а для сорта Невский – 600 мкг/л.

Подобранные наиболее перспективные для трансформации сорта, вариант экспланта, состав питательной среды для регенерации и концентрация цефотаксима в дальнейшем использовались для агробактериальной трансформации картофеля генами *Pt-GFP* и *HyPer*. Для этого были использованы агробактерии штамма AGL0, несущие плазмиды *pART27* с геном *Pt-GFP* (NanoLight® Technologies, США) или с геном *HyPer* (Евроген, Россия) под контролем промотора *CaMV 35S*. Для первичного отбора регенерантов использовалась селективная питательная среда с добавлением канамицина (100 мкг/л), ген устойчивости к которому находится также под контролем промотора *CaMV 35S*.

Генетическая трансформация картофеля проводилась путем кокультивирования стеблевых эксплантов с агробактериями на среде 3В/0,5I в темноте два дня. Затем экспланты пересаживали на питательную среду 3В/0,5I с цефотаксимом и канамицином и через четыре недели снова на эту же среду для культивирования до появления регенерировавших побегов.

РАЗМЕРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СТРУКТУРА ПУСТЫННОГО СООБЩЕСТВА МУРАВЬЕВ (УЗБЕКИСТАН)

Т. В. Попкова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tatyanapopkovaptv@ya.ru

Размерная дифференциация – один из основных нишевых механизмов, обеспечивающих сосуществование разных видов муравьев в аридных типах биомов. Это связано с тем, что пустыни представляют собой относительно простые, плоские ландшафты и подавляющее большинство видов в пустынях – герпетобионты. При изучении размерно-функциональной структуры многовидовых сообществ муравьев наиболее перспективным направлением является анализ функционального разнообразия. Функциональное разнообразие отражает адаптивную ценность морфологических, физиологических и экологических признаков организмов. Для количественной характеристики функционального разнообразия проводят измерения морфологических признаков, которые имеют функциональное значение. Это дает возможность рассматривать разнообразие функциональных признаков в морфологическом пространстве и количественно оценивать позицию вида в сообществе.

Цель работы – провести анализ размерной структуры пустынного сообщества муравьев Узбекистана (песчаная пустыня Каттакум, окрестности пос. Учкызыл, Сурхандарьинская обл. и песчано-глинистая пустыня с посадками белого саксаула в окрестностях Шуртанского газохимкомплекса, Кашкадарьинская обл.) с помощью функционального подхода.

Объектами изучения послужили 20 видов муравьев. Для каждого вида проводились измерения 6 рабочих особей по 6 функциональным признакам: длина скапуса (связана со способностью к ориентации), максимальный диаметр глаза (стратегия фуражировки), длина и ширина головы, длина мезосомы (индикаторы размера тела, связанные с потреблением ресурсов) и длина задней голени (скорость передвижения на плоской поверхности). Для устранения возможных артефактов использовались 2 индекса: относительный размер глаза (отношение максимального диаметра глаза к ширине головы) и относительная длина задней голени (отношение длины задней голени к длине мезосомы). Полученные измерения были обработаны методом главных компонент.

Показано, что использование функционального подхода позволяет выявить два основных параметра: размеры тела видов и их морфологические особенности, связанные с приспособлением к окружающей среде, и трофические особенности видов. Большинство изученных видов имеют мелкие размеры тела. У некоторых видов ярко выражен внутривидовой полиморфизм (*Camponotus turkestanicus*, *Messor intermedius* и др.), что свидетельствует о снижении внутривидовой конкуренции при использовании одного и того же пищевого ресурса. В зависимости от трофических предпочтений можно выделить следующие основные группы (процентами в скобках обозначены доли от общего числа видов): карпофаги (35%), зоофаги (35%) и полифаги (15%). По литературным данным *Crematogaster subdentata* является трофобионтом (15%), наряду с *Tapinoma karavaievi* и *Plagiolepis pallescens* (для обоих видов падь Немиптера составляет основу питания).

Размерные ниши большинства видов без учета трофической группы частично перекрываются. Однако внутри трофической группы размерные ниши видов обычно расходятся. Частичное совпадение размерных ниш может свидетельствовать о наличии временной (*Camponotus turkestanicus* и некоторые виды рода *Cataglyphis*), пространственной дифференциации (*Messor* cf. *structor* и *Messor laboriosus*) или поведенческих различий (*Crematogaster subdentata* – доминант, *Camponotus turkestanicus* – субдоминант).

Автор выражает благодарность своему научному руководителю В. А. Зрянину за предоставленные материалы и консультации в ходе работы.

ПОЛУЧЕНИЕ И ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БЕСКЛЕТОЧНЫХ ОРГАННЫХ МАТРИКСОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

А. Д. Поспелов, А. Б. Воловецкий, Е. И. Черкасова, А. А. Брилкина, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

eso103163@gmail.com

Получение бесклеточных органных матриксов, или децеллюляризация, представляет собой обработку натуральных тканей или органов с удалением всех клеточных элементов и максимальным сохранением состава и структуры внеклеточного матрикса. Такие матриксы используются, в первую очередь, для задач регенеративной медицины. Децеллюляризованные (ДЦЛ) матриксы могут быть заселены целевыми клетками и имплантированы пациенту для замещения поврежденных или утраченных органов. Этот подход позволяет в большей части обеспечить микроокружение клеток и клеточных структур, характерное для полноценной ткани. Кроме этого, ДЦЛ-матриксы могут быть использованы в экспериментальной онкологии для исследования взаимодействия опухолевых клеток с компонентами стромы и влияния последней на процессы развития и метастазирования. Целью нашей работы являлось получение ДЦЛ-матриксов органов мыши и их гистоморфологическое исследование. В качестве объектов были использованы следующие органы: сердце, почки, печень, легкие, желудок, кишечник, селезенка, яичники, скелетная мышца, кожа.

Для получения матриксов методом химической децеллюляризации органы животных последовательно выдерживались в растворах различных веществ с использованием додецилсульфата натрия (SDS) в качестве базового детергента. Были апробированы две методики. В первом случае, органы выдерживались в стерильном 1% растворе SDS. Среда менялась с периодичностью раз в 3 часа первые сутки, затем с периодичностью раз в 12 часов. Во втором случае происходило выдерживание децеллюляризуемых органов последовательно в дистиллированной воде, 0,05% растворе трипсина с 0,02% ЭДТА, 0,075% растворе SDS и 0,25% растворе Тритона X-100. Временные промежутки составляли 1 час, 1 час, 24 часа и 24 часа, соответственно. Был проведен гистоморфологический анализ исходных органов и полученных ДЦЛ-матриксов. С этой целью образцы подвергались дегидратации спиртами и заключались в парафиновые блоки. Помещенные на стекла срезы образцов депарафинизировали и окрашивали гематоксилин-эозином и трихромом по Массону. Итогом окраски стало прокрашивание как клеточных компонентов, таких как цитоплазма и ядра (при наличии), так и коллагеновых волокон.

В ходе децеллюляризации наблюдали постепенную потерю окраски органа, а также помутнение децеллюляризирующего раствора, что свидетельствует о вымывании клеточного компонента. Итоговые матриксы, сохраняя свою структуру, становились почти прозрачные или беловатые слабо-мутные. В некоторых случаях сохранялось некоторое количество клеточного компонента в глубине органа. Для полной децеллюляризации органов потребовалось от одного дня до примерно месяца, в зависимости от органа и использованной методики. По результатам работы установлено, что, несмотря на то что методика с использованием 1% раствора SDS наиболее хорошо подходит для всех органов по таким критериям как: визуальная целостность структуры органа и скорость децеллюляризации, она сильно нарушает пространственную ультраструктуру матрикса. В это же время, методика с использованием Triton X-100, хоть и требует много времени на полную децеллюляризацию, очень аккуратно воздействует на матрикс, что позволяет предположить ее большую перспективность. В дальнейшем оптимизированная методика получения ДЦЛ-матриксов будет использована при исследовании закономерностей процесса метастазирования определенных типов опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-00-00119).

ВЛИЯНИЕ МАТОЧНОГО МОЛОЧКА ПЧЕЛ И УБИХИНОНА-10 НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОРГАНОВ ИНТОКСИКАЦИИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Т. А. Прокофьева, Е. В. Крылова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
prokofyeva2015@mail.ru

Спорт высших достижений связан с физическими нагрузками предельной мощности. Адаптационные возможности организма не беспредельны, у спортсменов происходят существенные изменения биохимических показателей в тканях и органах, которые могут вызывать нарушения функций. При этом возникающие стрессорные изменения в системах организма требуют своевременной и эффективной коррекции или профилактики. На сегодняшнее время в ряду известных корректоров и протекторов таких состояний особое место занимают вещества природного происхождения, которые не имеют ряда побочных эффектов, свойственных синтетическим препаратам, органично встраиваются в метаболизм, адаптируя организм, либо корригируя возникшие нарушения, и они не являются допингом, в связи с чем могут быть использованы в практике спорта.

Важно учитывать, что практическая медицина в значительно большей степени заинтересована в метаболических препаратах многократного применения с восстановительным типом действия, а не в психостимуляторах мобилизующего типа разового назначения. Такими веществами природного происхождения могут выступать антиоксиданты – маточное молочко пчел и убихинон-10.

Для оценки адаптогенной активности препаратов применена методика с использованием животных – тест Порсолта, или «принудительное плавание с отягощением до отказа». Животным всех опытных групп в течение 10 дней скармливали через зонд: 1 – нативное маточное молочко (в дозе 100 мг/кг) в виде свежеприготовленного водного раствора, 2 – убихинон-10 (в дозе 15 мг/кг), смешанный с оливковым маслом, 3 – комбинацию растворов нативного маточного молочка и убихинона-10 в тех же дозах. Крыс подвергали «принудительному плаванию с отягощением до отказа» на основе классической методики Порсолта однократно на первом этапе и десятикратно на втором этапе эксперимента. Каждую крысу с грузом, составляющим 10% от массы тела, помещали в емкость с водой глубиной не менее 60 см. Когда животное было не в состоянии удержаться над поверхностью воды самостоятельно, его вынимали из воды. На 11-й день животных выводили из эксперимента путем декапитации.

Для приготовления гомогената печени и почек использовали микроизмельчитель тканей. Навеску ткани (1 г) измельчали в фарфоровой ступке и заливали 1 мл физраствора, затем гомогенизировали. В гомогенате органов крыс (печени и почек) определяли содержание диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, оснований Шиффа, концентрацию малонового диальдегида, активность каталазы.

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 10 для Windows. Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента с вычислением средней величины и стандартного отклонения.

Моделирование стресса вызвало повышение показателей суммарной активности процессов перекисного окисления липидов и повышение активности каталазы в печени и почках. Маточное молочко и убихинон-10 проявили антиоксидантные свойства, нормализуя показатели содержания диеновых, триеновых конъюгатов, оснований Шиффа, концентрации малонового диальдегида.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОНИКНОВЕНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В ГЛУБЬ ОПУХОЛЕВОГО СФЕРОИДА *IN VITRO*

*А. Д. Пужихина*¹, *Е. А. Соколова*^{1, 2}, *С. М. Деев*^{1, 2}, *И. В. Балалаева*¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
puzhikhina.alena@gmail.com

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Большинство исследований *in vitro* в области экспериментальной онкологии проводится на монослойных культурах клеток. Однако такая двухмерная модель не отражает реального строения опухоли в организме, когда проникновение терапевтических агентов, особенно крупных по размеру белков, может быть ограничено, что снижает их эффективность. Альтернативным методом исследований *in vitro* может служить использование трехмерных клеточных моделей, в частности, сфероидов опухолевых клеток. Благодаря применению сфероидов, появляется возможность *in vitro* визуализировать проникновение исследуемого терапевтического агента в глубь опухоли и оценить его эффективность.

Целью работы являлась оценка проникновения таких терапевтических агентов как иммунотоксин DARPIn-LoPE и доксорубицин в сфероиды. Иммунотоксин DARPIn-LoPE – рекомбинантный белок, имеющий в своем составе две части: направляющую (DARPIn), которая представляет собой HER2-специфичный полипептид класса дарпинов, и токсическую (LoPE), которая несет в себе низкоиммуногенный фрагмент псевдомонадного экзотоксина А (*Pseudomonas* exotoxin A). Доксорубицин является противоопухолевым антибиотиком антрациклинового ряда, который оказывает антимиотическое и антипролиферативное действие. Сфероиды были получены из клеток линии аденокарциномы яичника человека, экспрессирующих флуоресцентный белок *Katushka* (SKOV-kat). Экспрессия рецептора HER2 клетками линии SKOV-kat была оценена методом проточной цитофлуориметрии после окрашивания клеток HER2-специфичными антителами, конъюгированными с красителем FITC. Визуализацию проникновения терапевтических агентов в целый сфероид проводили методом конфокальной микроскопии. Кроме этого, оценивали динамику накопления агентов в клетках сфероидов методом проточной цитофлуориметрии. Для проведения данных экспериментов иммунотоксин был предварительно маркирован FITC; доксорубицин визуализировали по его собственной флуоресценции ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ – 495/595 нм).

В ходе работы было показано, что сигнал флуоресценции белка *Katushka* можно зарегистрировать на глубине ≈ 250 мкм, при общем диаметре сфероида ≈ 500 мкм. Это наблюдение позволило сделать вывод о возможности применения конфокальной микроскопии для оценки проникновения терапевтических агентов в опухоль. Также был показан высокий уровень экспрессии рецептора HER2 клетками линии SKOV-kat, что оправдывает использование HER2-специфичного иммунотоксина DARPIn-LoPE на сфероидах, полученных из клеток данной линии. Было обнаружено, что проникновение агентов усиливается с увеличением времени инкубации (от 2-х до 24-х часов). При этом доксорубицин накапливался лучше, чем DARPIn-LoPE. Так, доксорубицин за 2 часа проникал на глубину ≈ 45 мкм, а за 24 часа – на ≈ 200 мкм, при диаметре сфероидов ≈ 400 мкм. В случае DARPIn-LoPE это расстояние составило ≈ 30 мкм при 2-часовой инкубации, и ≈ 60 мкм – при 24-часовой, при аналогичном диаметре сфероида. Подобная картина наблюдалась и для данных, полученных методом проточной цитофлуориметрии: сигнал флуоресценции клеток, инкубированных с исследуемыми агентами, повышался с увеличением времени инкубации. Большее накопление доксорубицина внутри сфероида может быть связано с его меньшей молекулярной массой ($\approx 0,5$ кДа), по сравнению с иммунотоксином DARPIn-LoPE (42кДа).

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 17-74-10227).

ИЗМЕНЕНИЕ АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ОРГАНИЗМА ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ СО СТАРЕНИЕМ, НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

М. О. Разумова, В. В. Костенко

Казанский федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
razumova_m2014@mail.ru

Снижение функции памяти и работы нервной системы является нормальным процессом старения, но также может быть следствием патологического состояния. По данным ВОЗ десятки миллионов людей страдают различными хроническими нейродегенеративными заболеваниями (НДЗ). В основе патогенеза НДЗ лежит гибель специализированных нейронов, что со временем приводит к нарушению функций, в регуляции которых они участвуют. Для понимания молекулярно-генетических и физиолого-биохимических процессов НДЗ в качестве модельного объекта используется *Drosophila melanogaster*.

Данное исследование было посвящено изучению влияния препаратов, используемых для лечения НДЗ на изменение адаптационного потенциала у мутантов системы АВС-транспортера *Drosophila melanogaster*. Эксперимент был выполнен с использованием 3 мутантных линий, которые характеризуются нейробиологическими нарушениями: *white* (*w*; CG2759), *brown* (*bw*; CG17632) и *scarlet* (*st*; CG4314). Изучалось действие препаратов: гопантам, 250 мг (действующее вещество – гопантенная кислота), луцетам, 1200 мг (действующее вещество – пираретам). Лекарственные препараты добавлялись в питательную среду в концентрациях: для гопантама – 15 и 30 мг на 1 мл среды, для луцетама – 25 и 50 мг на 1 мл среды. В качестве контроля служили мухи, которых культивировали на стандартной питательной среде без добавления препаратов. Влияние препаратов оценивалось по изменению таких признаков: жизнеспособность имаго и двигательная активность. Для определения токсичного действия препаратов проводился анализ на жизнеспособность (процент жизнеспособных имаго, которые в период личиночной стадии подвергались действию препаратов). Для установления изменений, происходящих в нервной системе, применялся поведенческий анализ – оценивался уровень спонтанной двигательной активности имаго, которые в период личиночной стадии подвергались действию препаратов. Анализ мутантов системы АВС-транспортеров – *white*, *brown* и *scarlet* показал, что культивирование мух на среде с гопантамом оказывает негативное влияние на жизнеспособность особей. Для мутантов *w*, *bw* и *st* в опыте с концентрацией 15 мг/мл снизило показатель в 4,7, 1,5 и 3,2 раза по сравнению с контрольными значениями, а при увеличении концентрации до 30 мг/мл жизнеспособность снизилась в 7, 5,3 и 6,1 раза, соответственно. В случае культивирования мух на среде с луцетамом, для всех без исключения мутантов изменения жизнеспособности достоверно не отличались от значений контрольных групп. Поведенческий тест показал, что мутанты, которые развивались на среде с гопантамом наибольший положительный эффект наблюдался для особей *brown*, уровень двигательной активности увеличился в 1,5–2 раза по сравнению с интактными имаго. Культивирование мутантов *white* и *scarlet* на среде с луцетамом приводит к незначительному улучшению поведенческой реакции. Выбранные для анализа гены системы АВС-транспортера – *white*, *brown* и *scarlet* – играют важную роль в контроле синтеза цГМФ, АТФ, биогенных аминов и нейротрансмиттеров (серотонина, дофамина). У дрозофилы мутации в этих генах приводят к снижению уровня серотонина и дофамина в головном мозге. На основании полученных результатов, можно предположить, что добавление гопантама увеличивает концентрацию ГАМК, что отражается в повышенной двигательной активности, хотя и имеет противоположный эффект на жизнеспособность особей. Требуются дальнейшие исследования для выявления роли гопантама и луцетама в улучшении работы нервной системы.

МЕХАНИЗМЫ АСИНХРОННОГО ВЫБРОСА НЕЙРОМЕДИАТОРА В СИНАПСАХ МЕЖДУ ССК+ ИНТЕРНЕЙРОНАМИ И ПИРАМИДНЫМИ НЕЙРОНАМИ ГИППОКАМПА МЫШИ *IN VITRO*

Ф. Ф. Рахматуллина, А. А. Вазетдинова, А. В. Розов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
fliza8080@mail.ru

Существует два основных типа вызванного выброса нейромедиатора из пресинаптического нервного окончания: 1) синхронный выброс, который происходит в течение нескольких миллисекунд после генерации потенциала действия; 2) асинхронный выброс, который сохраняется в течение десятков миллисекунд до десятков секунд после генерации потенциала действия или пачки потенциалов действия. Асинхронный выброс нейромедиатора характерен для синапсов центральной нервной системы (ЦНС) и нервно-мышечного соединения. Однако есть случаи, когда асинхронный выброс нейромедиатора указывает на патологические состояния ЦНС. Например, при моделировании нейродегенеративных заболеваний нервной системы, таких как болезнь Альцгеймера и спинальная мышечная атрофия, у мышей наблюдается переход от синхронного к асинхронному выбросу нейромедиатора. Усиление асинхронного выброса нейромедиатора выявлено так же в ГАМКергических синапсах мозга человека с эпилептической активностью. Таким образом, детальное изучение механизмов, лежащих в основе асинхронного выброса, необходимо для более глубокого понимания нормального и патологического функционирования мозга. Несмотря на то, что молекулярный механизм, участвующий в генерации асинхронного выброса нейромедиатора относительно хорошо изучен, источник Ca^{2+} , обеспечивающий длительное слияние везикул, остается неясным.

Все эксперименты проводились на срезах гиппокампа мышей (P14-21). В качестве основного экспериментального метода мы использовали парную патч-кламп методику регистрации синаптически связанных нейронов. Мы обнаружили, что кальций проницаемые NMDA-каналы и пресинаптические ванилоидные рецепторы первого типа (TRPV-1) не вовлечены в генерацию асинхронного выброса нейромедиатора. Мы также показали, что высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточного депо посредством активации рианодиновых рецепторов также не влияет на параметры асинхронного выброса нейромедиатора. Полученные нами данные показывают, что асинхронное высвобождение нейромедиатора, по-видимому, является результатом временного прерывания вывода Ca^{2+} из пресинаптических нервных окончаний. В дальнейшем мы планируем оценить возможный вклад двух основных комплексов выведения Ca^{2+} из нервных окончаний (Ca^{2+} -АТФазы и Na^{+}/Ca^{2+} -обменника).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-75-10061).

ПОЛНОГЕНОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ И ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕГО ШТАММА АКТИНОБАКТЕРИЙ *TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS* PS2

В. А. Романова, Е. А. Булыгина, Т. В. Григорьева, А. В. Лайков

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
avonamora-94@mail.ru

Вследствие загрязнения окружающей среды нефтью, процесс селекции новых штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов остается актуальным. Среди них часто встречаются условно-патогенные штаммы, которые помимо выживания в неблагоприятной окружающей среде, способны выживать в организме хозяина, благодаря наличию универсальных факторов устойчивости. Таким образом, вопрос о безопасности применения условно-патогенных штаммов бактерий в биоремедиации загрязненных участков окружающей среды по сей день остается открытым.

Из твердых отходов предприятия химического синтеза нами был выделен бактериальный изолят, способный к росту на питательных средах с алканами в качестве единственного источника углерода и энергии. По гену 16S рРНК изолят идентифицирован как *Tsukamurella tyrosinosolvens* PS2. Нами была расшифрована нуклеотидная последовательность полного генома *T. tyrosinosolvens* PS2 размером 4.84 Мб (Illumina, MiSeq). В геноме исследуемого штамма обнаружены гены системы первичной атаки алкановой цепи и бета-окисления жирных кислот, позволяющих штамму осуществлять полное окисление алканов до ацетил-КоА.

Известны геномы трех штаммов вида *T. tyrosinosolvens*, представленные в базе данных NCBI: *T. tyrosinosolvens* PS2 (исследуемый штамм), *T. tyrosinosolvens* CCUG 38499 (клинический штамм) и *T. tyrosinosolvens* JCM 15482 (почвенный штамм).

Поиск генетических детерминант патогенности в геномах анализируемых бактериальных штаммов был проведен в программе MP3: Prediction of Pathogenic/Virulent Proteins, по следующим факторам: адгезия, инвазия, секреция и резистентность микроорганизмов. Для этого использован гибридный подход с применением SVM и НММ моделей для достижения большей точности результатов. Всего обнаружено 533 гена, из которых 516 являлись общими для всех трех штаммов, 7 генов уникальных для штамма *T. tyrosinosolvens* PS2 и 10 генов характерных для клинического и почвенного изолятов.

В углеводородокисляющем штамме *T. tyrosinosolvens* PS2 отсутствовали факторы инвазии, которые участвуют в первичной атаке клеток и тканей организма-хозяина, а именно гены ферментов трипсина и эндопептидазы, расщепляющих пептиды и белки. Отсутствовали гены синтеза псевдоаминовой кислоты, необходимой для движения бактериальной клетки, колонизации слизистых и инвазии в ткани организма-хозяина. Помимо этого, не обнаружены ключевые гены системы секреции IV типа, которая зачастую осуществляет секрецию белков вирулентности в эукариотическую клетку.

Таким образом, обнаруженные в ходе полногеномного профилирования штамма PS2 отличия представляют интерес для изучения особенностей метаболизма представителей вида *T. tyrosinosolvens*. Нехватка генов первичной атаки клеток и тканей организма-хозяина у исследуемого штамма, вероятно, снижает степень его вирулентности. Однако окончательное заключение о безопасности исследуемого микроорганизма будет получено после проведения испытаний на экспериментальных организмах.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОЙ ДОЗЫ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ РАДИОЧАСТОТНОГО ДИАПАЗОНА

Е. Г. Рохмистрова, Ю. Е. Ананьева, О. А. Захарова, О. М. Лыбынцева

Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики,
607190, Нижегородская обл., Саров, просп. Мира, 37; *olga@bfrc.vniief.ru*

Изучение глутаминовой системы, занимающей в обменных процессах мозга ключевую позицию, имеет большое значение, поскольку нарушение баланса между ее основными звеньями лежит в основе патогенеза судорожных состояний. Действие большинства противосудорожных препаратов сопровождается рядом побочных эффектов, к числу которых можно отнести нарушение основных когнитивных функций - внимания, памяти, восприятия, что может препятствовать профессиональной деятельности. В связи с этим проблема предотвращения повреждения головного мозга в результате судорог остается актуальной. Альтернативным вариантом коррекции альтерированных состояний может служить воздействие электромагнитного поля (ЭМП) радиочастотного диапазона нетепловой интенсивности.

В работе представлены результаты влияния прекондиционирующего воздействия ЭМП на изменение среднеэффективной дозы конвульсанта – пентилентетразола (PTZ) по времени возникновения генерализованных судорог. Объектом исследования являлись белые беспородные крысы – самцы массой 200–240 г в количестве 48 особей.

Оценку судорожной активности проводили по модифицированному методу Г.Н. Крыжановского и соавт. (1993), основанному на принципе балльных оценок проявления судорог. Непосредственно после воздействия ЭМП крысам внутримышечно вводили PTZ в объеме 0,1 мл на 100 г массы тела в концентрациях: 30 мг/кг, 40 мг/кг, 50 мг/кг, 64 мг/кг, 80 мг/кг, 100 мг/кг, 125 мг/кг. Визуальное наблюдение за животными осуществляли непрерывно на протяжении 1 ч. после введения PTZ, в дальнейшем оценку состояния осуществляли ежечасно в течение 6 ч. Гибель животных регистрировали на протяжении 1 суток после отравления. Расчет среднеэффективных (среднелетальных) доз проводили методом пробит-анализа по Финни.

Полученное достоверное увеличение времени развития признаков отравления и уровня среднеэффективных и среднелетальных доз после воздействия ЭМП по сравнению с интактными животными указывает на повышение судорожного порога у грызунов. Вероятно, ЭМП, по-видимому, влияет на работу глутаминового комплекса, способствуя восстановлению баланса между тормозными и возбуждающими системами. В дальнейшем, более детальное изучение влияния магнитного поля на функционирование глутаминовой системы позволит рассматривать ЭМП в качестве средства коррекции судорожных состояний.

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ У ЖИВОТНЫХ С ИЗМЕНЕНИЕМ МИКРОБИОТЫ В ТЕСТЕ ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ

М. П. Рудич, А. Н. Арсланова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Mariya.Rudich@mail.ru

Кишечная микробиота – это сообщество микроорганизмов, которые помогают поддерживать метаболическое равновесие в организме. Исследования на стерильных мышках показали необходимость комменсальной микробиоты для множества физиологических процессов, таких как функционирование иммунной системы, поведенческие и когнитивные функции мозга. Клинические исследования сообщают об изменении состава микробиоты при таких заболеваниях, как депрессия, синдром раздраженного кишечника и аутизм. Эти данные позволяют еще больше убедиться в справедливости теории, что относительное изобилие и разнообразие микробов существенно влияют на развитие мозга. Эти данные могут также открыть новые возможности для развития эффективной терапии не только нарушений, связанных с ЖКТ, но и терапии психиатрических заболеваний. Целью данного исследования было сравнение поведенческих реакций мышей в тесте Открытое поле в контроле и при экспериментально измененной микробиоте.

Объектом исследования были мыши в возрасте 20–25 дня жизни. Мыши были разделены на 3 группы: 1) группа активного контроля (АК), мыши ($n=10$) получавшие инъекции физиологического раствора; 2) группу мышей, получающих инъекции антибиотиков (АБ, $n=10$); 3) группу мышей получающих инъекции антибиотиков и с добавлением в питьевую воду лактобацилл (АБ+ЛБ, $n=10$).

Внутрибрюшинные инъекции антибиотиков (Неомицин 1 мг/доза, Ванкомицин 5 мг/доза, Амфотерицин Б 0.02 мг/доза, Ампициллин 2 мг/доза, Метронидазол 1 мг/доза), физиологического раствора и добавление лактобацилл в питьевую воду в концентрации ($4 \cdot 10^6$ кл/доза) проводили в течение 2 недель.

Для оценки общих поведенческих реакций у грызунов использовали тест Открытое поле. Мышей помещали в центр круглой арены диаметром 90 см пол, которой имеет отверстия и разлинован на квадраты размером 10x10 см. Регистрировали в течение 3 минут количество пересеченных квадратов – горизонтальную двигательную активность (ГДА), стойки на задних лапах и заглядывания в отверстия - (вертикальная двигательная активность, ВДА) – ориентировочную, исследовательскую активность, акты груминга, болюсы дефекации и время выхода из центра - характеристика эмоциональной реакции страха. Тесты проводились до начала (К) и сразу после окончания курса инъекции антибиотиков (АК, АБ, АБ+ЛБ).

В АБ группе наблюдалась повышенная двигательная активность (166 ± 40 , $p \leq 0,05$) по сравнению с К (128 ± 12), АК (121 ± 11) и ЛБ (121 ± 12) группами. У животных до начала инъекций наблюдалось $5,9 \pm 0,5$ обследованных норок. После окончания инъекций в АК группе количество исследованных норок не изменилось ($6,7 \pm 1,6$), в АБ группе достоверно снизилось ($3,2 \pm 1,2$, $p \leq 0,05$) и в ЛБ группе ($6,4 \pm 0,8$) не отличалось от начальных и контрольных значений. В АБ группе количество вертикальных стоек было достоверно ниже ($10,4 \pm 1,3$, $p \leq 0,05$) по сравнению с К ($12,4 \pm 1,6$), АК ($13,6 \pm 1,3$) и ЛБ ($12,2 \pm 1,6$) группами. У животных, входящих в АБ группу, наблюдалась повышенная эмоциональность (увеличение актов груминга и болюсов дефекации) по сравнению с К, АК и ЛБ группами.

В условиях измененной введением антибиотиков микробиоты наблюдается повышение локомоторной активности, эмоциональности, и снижение исследовательской активности мышей.

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ УСТЬЕВОГО УЧАСТКА РЕКИ ОКИ ПО ДАННЫМ 2017 ГОДА

Д. С. Ручкин¹, Д. Е. Гаврилко¹, Е. В. Шурганова²

¹ Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
diman.ruchkin@yandex.ru

² Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Ока – равнинная река европейской части России, испытывающая сильное антропогенное воздействие. Это второй по величине после р. Камы приток Волги. Устьевой участок реки Оки имеет большое хозяйственное значение, поскольку используется как источник водоснабжения Нижнего Новгорода. В связи с этим актуальной является оценка экологического состояния устьевой части реки Оки. Целью работы являлась оценка экологического состояния устьевой части реки Оки на основе показателей количественного развития зоопланктона. Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, отобранные в ходе единовременной съемки в начале августа 2017 г. в устьевой части реки Оки в районе Нижнего Новгорода. Пробы зоопланктона отбирались в медиальной зоне реки, а также в прибрежье: в зарослях осоки (*Carex* sp.) и кубышки желтой (*Nuphar lutea*). Отбор и обработка проб проводились общепринятыми в практике гидробиологических исследований методами. По результатам исследований в зоопланктоне р. Оки было идентифицировано 53 вида, из них 20 видов коловраток (Rotifera), 24 вида ветвистоусых ракообразных (Cladocera), 9 видов веслоногих ракообразных (Copepoda). Зоопланктоценоз медиальной части реки характеризовался монодоминированием коловратки *Brachionus calyciflorus*. Субдоминантом являлась коловратка *B. angularis*. Это обуславливало крайне низкие значения индексов видового разнообразия Шеннона (0.95–1.69). Доминирование коловраток семейства Brachionidae свидетельствует об органическом загрязнении вод. Общая численность зоопланктона составила $11,6 \pm 0,74$ тыс. экз./м³, биомасса $0,03 \pm 0,02$ г/м³. Интенсивность фильтрации воды рачковым планктоном была не высокой – $0,39 \pm 0,24$ л/сут. Среднее значение индекса сапробности составило $2,46 \pm 0,003$, воды характеризовались III классом качества (умеренно загрязненные), приближаясь к границе III–IV класса (умеренно загрязненные – загрязненные). Трофический статус оценивался как гиперэвтрофный. В отличие от медиальной части реки, в зоопланктоценозах прибрежных биотопов преобладали ракообразные. Доминантами здесь были ветвистоусые рачки *Sida crystallina*, *Bosmina longirostris* и младшие возрастные стадии веслоногих ракообразных. Наибольшая численность зоопланктона была зарегистрирована в зарослях кубышки – 25 тыс. экз./м³. Максимальные значения биомассы были отмечены в зарослях осоки – $0,82$ г/м³. Значения индексов видового разнообразия Шеннона в зарослевых биотопах были выше, чем в медиальной зоне и составили 1,55 и 2,85 в зарослях осоки и кубышки соответственно. Для зарослей осоки отмечена наибольшая интенсивность фильтрации воды – 219 л/сут. за счет массового развития крупного рачка-фильтратора – *Sida crystallina*. Именно здесь индекс сапробности принимал наименьшее значение – 1,44, воды характеризовались II классом качества (чистые). Интенсивность фильтрации в зарослях кубышки была значительно ниже и составляла 15 л/сут. Значение индекса сапробности было 1,55 (III класс качества, умеренно загрязненные). Воды прибрежных биотопов имели эвтрофный статус.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что на основе показателей развития зоопланктона экологическое состояние медиальной части реки оценивалось как напряженное. В прибрежной зоне реки наблюдалась более благоприятная экологическая обстановка. Планктонные фильтраторы играют большую роль в самоочищении и поддержании экологического состояния устьевой части реки Оки.

Авторы благодарят своего научного руководителя д.б.н., профессора Г. В. Шурганову за всестороннюю поддержку настоящей работы.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ МЫШЕЙ, ПРОЯВЛЯЮЩИХ ПРИЗНАКИ ЭПИЛЕПСИИ

В. П. Рыбакова, Н. М. Жидкова, И. И. Белоусова, А. А. Бабаев, В. С. Тарабыкин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

verunya.rubackova@mail.ru

Быстро расширяющаяся сфера генетических данных существенно способствует нашему пониманию многих заболеваний, включая некоторые эпилептические нарушения, но отношение между генетическими отклонениями и фенотипическими проявлениями остается сложным и не до конца понятным. Выявление и характеристика новых мутантных мышей с последующей идентификацией и характеристикой генов, отвечающих за мутации, позволит значительно улучшить наше понимание генетической регуляции развития и последующих нарушений в работе коры головного мозга. Целью исследований является идентификация новых мутаций генов, вызывающих пороки развития коры головного мозга у мышей.

В ходе исследования мы генерируем мышинных мутантов с нарушенной структурой и функцией коры головного мозга путем направленного мутагенеза N-этил-N-нитрозомочевинной (ENU). Для выявления мутантов предусматривается поведенческое фенотипирование с целью отбора мышей с повышенной склонностью к эпилептическим припадкам. Оценка эпилептической активности производится по методике Крушинского с учетом степени проявления аудиогенных судорог. Отобранные особи животных используются для закрепления мутации в соответствии с разработанной схемой скрещивания. В процессе закрепления проводится скрининг всех последовательностей поколений.

В рамках исследования в результате скрининга 60 «линий» мышей, потомков 29 ENU-индуцированных мутантных самцов, на чувствительность к аудиогенной стимуляции, были выявлены 12 «линий» животных, в той или иной степени проявивших признаки эпилептической активности: учитывались случаи эпилептиформной активности, случаи летальных исходов по отношению к общему количеству животных в группе, а также степень проявления аудиогенных судорог. По результатам тестирований были выбраны 2 группы животных, так как проявление признака среди потомства было наиболее частым по сравнению с остальными группами. В данных группах производили закрепление мутации путем гибридизации самок (G2) с их же отцами (G1), а также путем скрещивания сибсов.

Таким образом, к настоящему моменту мы уже имеем полученные и закрепленные линии мышей с высокой эпилептиформной активностью, и осуществляем генерацию новых мутантных особей, которые будут использованы в дальнейших исследованиях, связанных с выявлением нарушений структуры и функций головного мозга при эпилепсии. Планируется идентификация соответствующих мутантных генов с применением метода позиционного картирования. Также мы хотели бы охарактеризовать поведение этих мутантов и лежащие в его основе молекулярные механизмы.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ И ДИНАМИКИ СЕРОЙ ПЯТНИСТОСТИ НА БРУСНИКЕ *VACCINIUM VITIS-IDAEA*

Л. В. Рыжова, З. З. Файзрахманова

Марийский государственный университет, Йошкар-Ола
procorjeva@mail.ru

Различные повреждения растений (грибами, животными) играют важную роль в характеристике популяций, они вызывают изменение жизненного состояния растений, уменьшение их плодоношения и т.д.

В Республике Марий Эл наиболее распространенным заболеванием парциальных кустов брусники является серая пятнистость, вызываемая *Phyllosticta leptidea*. Серая пятнистость проявляется на листьях и побегах брусники. В начальной стадии заболевания лист покрывается буровато-красными округлыми пятнами по центру или по краю листовой пластинки. Затем ткань в центре пятна отмирает, а на площади пятна формируются пикниды гриба. Частота встречаемости парциальных кустов (ПК), пораженных серой пятнистостью, в различных сосняках составляет в среднем 23–32%, максимально 86–95%. В ельниках частота пораженных растений составляет 28–46%.

Для характеристики динамики распространения серой пятнистости в сосняках зеленомошных в заповеднике «Большая Кокшага» Республики Марий Эл в 2012 г. были заложены постоянные учетные площадки размером 1 м². На учетных площадках все ПК были замаркированы, определены их координаты. Для каждого ПК ежегодно определяется онтогенетическое состояние, календарный возраст, жизненность, наличие и характер различных повреждений и болезней. Число изученных в 2012–2016 гг. ПК брусники на учетной площадке варьирует от 61 до 257, при этом частота ПК, пораженных серой пятнистостью, изменяется от 6 до 43%.

Серая пятнистость может протекать во времени у разных ПК по-разному. Например, на учетных площадках обнаружены ПК со слабо выраженной болезнью (число пораженных листьев один-два) и резко выраженной болезнью (поражается практически всё растение). Причем частота ПК, имеющих небольшие повреждения (балл поражения 1), составляет более 51%. У некоторых ПК наблюдается уменьшение числа пораженных листьев, вплоть до полного их отсутствия при последующих наблюдениях. Такое «выздоровление» связано с небольшой степенью повреждения ПК и опадением поврежденных листьев на следующий год. Например, частота таких выздоровевших молодых генеративных ПК в отдельные годы может достигать 43%.

Для оценки характера распределения ПК учетную площадку делили на квадраты 10×10 см, в каждом квадрате подсчитывали число ПК, пораженных серой пятнистостью; для полученного эмпирического распределения числа ПК по квадратам проводили проверку согласия с распределением Пуассона с помощью критерия χ^2 отдельно для каждого года наблюдения. Анализ показал, что в 2012 г. распределение ПК на учетной площадке групповое ($\chi^2=50,37$; $v=14$; $p<0,001$), в 2013–2016 гг. размещение ПК случайное ($\chi^2=13,38-27,61$; $v=16-18$; $p>0,1$).

Таким образом, характер и интенсивность заболевания ПК брусники серой пятнистостью меняется в зависимости от условий года, онтогенетического состояния, степени поражения ПК в предшествующий год и т.д. Распространение серой пятнистости на учетной площадке носит преимущественно случайный характер.

МИКРОЯДЕРНЫЙ АНАЛИЗ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ АМФИБИЙ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Е. С. Рябинина, Е. Б. Романова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ryabinina.E.S@yandex.ru

При воздействии на организм негативных факторов среды, эффективность работы основных регулярных систем (нервной, иммунной, эндокринной) снижается, что приводит к нарушению цитогенетической стабильности и накоплению хромосомных нарушений. Оценить структурно-функциональные изменения в клетках возможно с помощью высокоинформативного микроядерного теста.

Цель работы: дифференцированная оценка видов микроядер в эритроцитах периферической крови озерных (*Pelophylax ridibundus*) и прудовых (*P. lessonae*) лягушек, обитающих в водоемах Нижегородской области, различающихся по происхождению, морфологии и химическому составу.

Материалом работы служили сборы озерных (80 особей) и прудовых (40 особей) лягушек, обитающих в шести водоемах Нижегородской области. В пробах воды, с помощью спектрофотометра, определены основные химические загрязнители и произведен расчет удельного комбинаторного индекса загрязненности воды. Число эритроцитов и лейкоцитов (тыс./мм³) определяли общепринятым методом. Для дифференцировки микроядер (выделяли оформленные, прикрепленные, палочковидные и разрыхленные) анализировали 2000 эритроцитов на особь (40000 клеток на выборку). Статистический анализ проводили непараметрическими методами с расчетом критериев Краскела-Уоллиса, Дана, Спирмена, критерия z при сравнении долей.

Исследованные водоемы различались уровнем и видом химических загрязнителей, имели 4–5 классы качества воды и характеризовались как грязные, очень грязные и экстремально грязные.

У зеленых лягушек, обитающих в водоемах с высоким уровнем загрязнения, выявлено снижение доли эритроцитов, свидетельствующее об угнетении процессов кроветворения; и возрастание содержания лейкоцитов, имеющее, по-видимому, адаптивный характер. Отметим наличие микроядер в эритроцитах лягушек всех исследованных выборок. Наиболее часто встречались прикрепленные (73,6%) и разрыхленные (23,6%) микроядра, доля оформленных (2,2%) и палочковидных (0,61%) была выражена слабо.

Коэффициентом ранговой корреляции Спирмена выявлена сильная положительная взаимосвязь, между количеством оформленных микроядер и содержанием в водоеме железа ($r=0,88$, $p=0,021$), марганца ($r=0,92$, $p=0,009$), нитритов ($r=0,86$, $p=0,025$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что с увеличением загрязнения среды обитания возрастает вероятность появления микроядер в эритроцитах крови. Можно предположить несколько механизмов влияния загрязнителей водной среды на процесс индукции микроядер. Так, известно, что высокие концентрации солей тяжелых металлов при попадании в организм приводят к токсическому ингибированию важных процессов метаболизма. При увеличении в крови концентрации нитритов снижается синтез белка тубулина, нарушается процесс расхождения хромосом, с последующим образованием микроядер. Избыточное накопление железа оказывает токсическое действие. Высокое содержание марганца ведет к увеличению частоты хромосомных нарушений за счет снижения иммунного ответа организма.

Таким образом, совокупное действие химических загрязнителей ведет к увеличению доли микроядер в эритроцитах крови лягушек, нарушая цитогенетическую стабильность популяций.

ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ ПСЕВДОЭОЗИНОФИЛОВ КРОВИ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК, ОБИТАЮЩИХ В ВОДОЕМАХ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

Т. Н. Рябчикова, М. Н. Сидушкина, А. А. Ведерников, А. О. Свинин, Г. П. Дробот

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;

ryabchikova.tatiana10@yandex.ru

Неспецифические щелочная (ЩФ) и кислая (КФ) фосфатазы представляют собой изоферменты, действующие на сложноэфирные связи, катализируя гидролиз эфиров фосфорной кислоты, реакции трансфосфорилирования. ЩФ и КФ чрезвычайно лабильны и чутко реагируют даже на слабые функциональные и патологические изменения в организме, поэтому активно применяются в гематологических исследованиях. Активность ЩФ в псевдоэозинофилах используют при диагностике хронического миелолейкоза, эссенциальной полицитемии, миелофиброзе, лейкомоидных реакциях, тогда как увеличение активности фермента КФ наблюдается при эксудативном диатезе, бронхиальной астме, хроническом миелозе, лимфатическом лейкозе. Закономерно интересна возможность их применения в практике биомониторинговых исследований для оценки состояния популяций различных групп позвоночных животных. В данной работе проведено изучение цитохимической активности ЩФ и КФ псевдоэозинофилов крови амфибий.

В качестве объекта исследований выбрано три вида зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* комплекс: озерная, прудовая и съедобная), которые были отловлены в 8 локалитетах: пгт Краснооктябрьский, пос. Ильинка, м-н «Чихайдарово» и лесопарк «Сосновая роща» г. Йошкар-Олы, пос. Нолька, пос. Кугуван, пгт Медведево, пос. Шушер. Отлов лягушек проводился летом 2017 г. Для изучения цитохимической активности щелочной фосфатазы был использован метод окраски мазков крови азосочетанием по Кеплоу (1955). Для определения активности кислой фосфатазы применен метод Goldberg, Barka (1962) в модификации Р.П. Нарциссова (1968). Всего исследована 121 особь зеленых лягушек. Определение видовой принадлежности проводилось по морфологическим признакам.

При оценке активности ЩФ были найдены статистические различия как по величине цитохимического коэффициента ($H=35,97$; $p<0,001$), так и по процентному содержанию положительно реагирующих псевдоэозинофилов ($H=43,25$; $p=0,016$) в амфибиях из разных местообитаний. Так, особи прудовой лягушки *P. lessonae* из водоема пос. Краснооктябрьский характеризовались более низкими значениями активности ЩФ в псевдоэозинофилах по сравнению с аналогичными показателями особей *P. lessonae* из пос. Ильинка ($p=0,003$), *P. lessonae* из пос. Нолька ($p=0,030$), *P. lessonae* ($p=0,023$) и *P. esculentus* ($p<0,001$) из пос. Кугуван, *P. lessonae* из пос. Шушер ($p<0,001$). Однако, не установлено различий по данному показателю при сравнении с лягушками из городских местообитаний («Чихайдарово» и «Сосновая роща»).

При оценке активности КФ также были найдены различия по цитохимическому коэффициенту ($H=45,19$; $p<0,001$) и по процентному содержанию псевдоэозинофилов положительно реагирующих у амфибий из разных локалитетов ($H=17,16$; $p=0,016$). При множественных сравнениях были выявлены следующие различия. У прудовой лягушки из пос. Кугуван в псевдоэозинофилах крови отмечены более высокие значения цитохимического коэффициента по сравнению с таковым у озерных лягушек из водоемов м-на «Чихайдарово» ($p<0,001$) и лесопарка «Сосновая роща» ($p=0,011$), а также по сравнению с прудовыми лягушками из пруда пос. Краснооктябрьский ($p=0,010$). Те же результаты отмечены и для совместно обитающей в пос. Кугуван в Л-Е системе съедобной лягушки.

Как можно видеть из полученных результатов, динамика величин обоих показателей имеет однотипную картину: наблюдается снижение активности ферментов ЩФ и КФ в клетках амфибий из пгт. Краснооктябрьский и города Йошкар-Олы, что, возможно, связано с действием антропогенных факторов на данных территориях.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА НА РОСТ КОРНЕЙ И ДЛИНУ ТЕЛОМЕР *ARABIDOPSIS THALIANA*

Д. Ю. Сабаяева, И. А. Агабекян, Л. Р. Низматуллина, Л. Р. Валеева, М. Р. Шарипова,
Е. В. Шакиров

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
diana.sabayeva@yandex.ru

Различные факторы абиотического стресса, в частности, нарушения водного режима, засоленность почв, кислородное голодание, экстремально низкие или высокие температуры, оказывают значительное влияние на рост и метаболизм растений. На примере растения *Arabidopsis thaliana* было показано, что температурный стресс способствует изменению экспрессии генов, связанных с теломеразной активностью. Однако, влияние абиотических факторов на длину теломер растений ранее практически не изучалось. Целью данного исследования было изучить влияние температурного стресса на длину теломер и на рост корня в растениях *A. thaliana*.

В работе использовались растения дикого типа (экотип Col-0) и мутанты по гену *OLI5*. Ранее нами было показано, что мутация в гене *OLI5*, кодирующем рибосомальный белок L5A, приводит к уменьшению длины теломер в *A. thaliana*. Семена T-ДНК мутантов были получены из коллекции SALK. Все растения выращивались вертикально, в стерильных условиях при +20...+22°C. На стадии двух настоящих листьев опытную группу растений подвергали тепловому воздействию в течение 1 часа при температуре +37°C. Через неделю после теплового воздействия проводили измерение длины главного корня и длины теломер в опытной и контрольной группах. Измерение длины теломер проводили с помощью метода PETRA - амплификации теломерных повторов на отдельных хромосомных плечах, результат визуализировали путем гибридизации с меченой с 5'-конца DIG-теломерной пробы.

Согласно полученным данным, температурный стресс приводил к уменьшению длины корней *A. thaliana*. В частности, длина главного корня снижалась у мутантов по гену *OLI5* на 27%, а у растений дикого типа – на 36,4%. После температурного стресса у растений также значительно увеличивалось количество придаточных корней. В настоящее время проводится измерение длины теломер у растений дикого типа и мутантов по гену *OLI5* для установления влияния температурного стресса на этот параметр.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА

А. Э. Сабирова, Р. С. Павельев, М. Р. Гарипов, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
Alinka.zam@mail.ru

Многие патогенные и условно-патогенные микроорганизмы формируют биопленки – сообщества микробных клеток, погруженные в полисахаридный матрикс. Биопленки образуются на поверхности слизистых, хронических язв, катетеров и имплантатов, и вызывают воспалительные осложнения в послеоперационном периоде. Бактерии в составе биопленки чрезвычайно устойчивы к биоцидам, антибиотикам и иммунной системе человека, быстро накапливают различные мутации и приобретают гены устойчивости к антибиотикам. Поэтому поиск новых эффективных антибактериальных соединений, эффективных в отношении клеток в составе биопленок, является актуальной задачей современной фармацевтики.

Одними из широко используемых в настоящее время антимикробных препаратов являются катионные поверхностно-активные соединения в виде четвертичных аммониевых солей, например, мирамистин и бензалкония хлорид. В НОЦ Фармацевтики КФУ на основе пиридоксина и фрагментов четвертичных аммониевых солей было синтезировано соединение GP3, которое в предварительных исследованиях продемонстрировало высокую эффективность против клеток *Staphylococcus aureus* и *S. epidermidis*.

В отношении клеток стафилококков в составе биоплёнок соединение GP3 показало активность, сравнимую с бензалкония хлоридом, и выше, чем у мирамистина. Резистентность бактерий к соединению возрастала в 8 раз в течение 7 пассажей, затем при снятии антибактериального воздействия значения МПК возвращались к исходным, в отличие от ванкомицина, в отношении которого приобретенная устойчивость сохранялась. В тесте Эймса не было выявлено генотоксичности соединения, в СОС-хромотесте ДНК повреждающая активность идентифицировалась при концентрациях GP3 выше 150 мг/л. Исследования цитотоксичности GP3 в отношении фибробластов кожи человека показали значения СС50 2–4 мг/л, что сравнимо с бензалкония хлоридом.

Таким образом, GP3 представляет собой новый потенциальный антисептик класса четвертичных аммониевых солей.

ТЕСТИРОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИНТЕРФЕЙС МОЗГ-КОМПЬЮТЕР МОТОРНО-ВООБРАЖАЕМОГО ТИПА С ВИБРОТАКТИЛЬНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗЬЮ НА ПАЦИЕНТАХ С ПОСТИНСУЛЬТНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ МОЗГА

А. О. Савосенков¹, Н. А. Григорьев¹, М. В. Лукоянов^{1, 2}, С. Ю. Гордлеева¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
andrey.savosenkov@gmail.com

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603081, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 70

Более трети выживших после инсульта пациентов страдают остаточными нарушениями двигательной функции. Поэтому так важно обеспечить этим пациентам последующие реабилитационные процедуры, направленные на восстановление двигательной функции. Одним из перспективных подходов в этом направлении является тренировка посредством мысленного представления движения или идеомоторный тренинг, приводящий к активации моторных корковых областей. Однако эффективность этого тренинга может быть далеко не полной из-за отсутствия объективного контроля со стороны пациента за яркостью и интенсивностью своих мысленных представлений движения, в силу их субъективной природы. В этой связи особенно перспективными становятся реабилитационные подходы, поддерживающие идеомоторную тренировку технологией интерфейсов мозг-компьютер – ИМК. Эта технология позволяет электронно-вычислительными средствами детектировать проявление мысленных представлений движения в специфических паттернах ЭЭГ в виде десинхронизации μ -ритма и немедленно их трансформировать в сигналы обратной связи для пациента.

Из числа обследованных в ходе исследования 30 больных, 11 человек соответствовали критериям включения в исследование и не имели критериев исключения, из них 5 человек дали информированное согласие на участие в исследовании. Из числа этих 5 больных (2 мужчин и 3 женщины, средний возраст $66,4 \pm 6,48$) лакунарный инсульт локализовался у 1 человека в глубинных отделах правой височной доли, у 3 человек – в области варолиева моста, у 1 – в области базальных ганглиев справа. В ходе данной работы осуществлялось неврологическое и нейропсихологическое обследование больного для оценки тяжести его состояния и степени дисфункции противоположной очагу инсульта руки. На следующем этапе объяснялась методика представления движений при подготовке к регистрации ЭЭГ для выбора испытуемым наиболее комфортного для себя (перебор пальцами, вращение в кистевом суставе или захват предмета), делая акцент на представлении тактильных ощущений. Проверялась глубина депрессии μ -ритма для воображаемого движения правой/левой рукой. У каждого из пациентов была осуществлена оценка степени удержания мысленного образа движения на основе регистрации ЭЭГ при использовании вибротактильной обратной связи. Предыдущими исследованиями доказано, что десинхронизация μ -ритма в левом полушарии, превышающая значение 50%, возникает при реальном движении, а также при успешном воспроизведении из памяти образа произвольных действий как в правой, так и в левой руке. В правом полушарии десинхронизация μ -ритма на ЭЭГ, превышающая 50%, обнаруживается только при воспроизведении из памяти образа движений в левой руке.

Таким образом, десинхронизация μ -ритма именно в левом полушарии, превышающая значение 50 %, может быть использована в качестве индикатора успешности попытки представления движения как левой, так и правой руки. Результаты анализа свидетельствуют о том, что успешность мысленного воспроизведения движений (определявшаяся по степени десинхронизации μ -ритма на ЭЭГ во время выполнения соответствующего задания) как в правой, так и левой руке ниже при локализации очага ишемии в стволе головного мозга, чем в его полушарии.

ВЛИЯНИЕ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ НА ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЗГА КРЫС С АБСАНСНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ

И. И. Садртдинова

Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
indira.ildarovna@mail.ru

В последнее время актуальным вопросом является исследование влияния половых гормонов на возникновение абсансных приступов. Известно, что среди потенциально эпилептогенных областей мозга, реагирующих на изменение гормонального фона, выделяют миндалевидный комплекс. В миндалевидном комплексе мозга одной из основных структур относящейся к числу элементов нейроэндокринной системы является переднее кортикальное ядро (СОа). Целью настоящей работы стало изучение влияния уровня половых гормонов на электрическую активность мозга крыс линии WAG/Rij с генетической абсансной эпилепсией.

Опыты проведены на половозрелых самках крыс линии WAG/Rij ($m=200-220$ г, $n=6$). Было произведено стереотаксическое вживление хронических электродов в СОа (хлоралгидрат 400 мг/кг, внутривбрюшинно). Регистрировали фоновую ЭЭГ в условиях свободного поведения. Далее самки с вживленными в мозг электродами были подвергнуты овариоэктомии. Спустя месяц после операции повторно проводили записи ЭЭГ. Заместительная терапия овариоэктомизированным самкам включала в себя инъекции 17β -эстрадиола (в дозе 10 мкг/100 г) один раз в сутки в течение двух дней, а затем (на третьи сутки) введение 17β -эстрадиола с прогестероном (доза 5 мг/100 г). Рассчитывали среднее количество и продолжительность каждого пик-волнового разряда (SWD). Все полученные результаты были подвергнуты статистической обработке в программе STATISTICA 7.0.

В результате после овариоэктомии нами было выявлено снижение среднего количества пик-волновых разрядов в СОа по сравнению с контрольной группой с $3,75\pm 0,44$ до $2,00\pm 0,31$ (при $p<0,05$). Анализ изменений средней продолжительности пик-волновых разрядов по ходу эксперимента показал, что длительность SWD у самок группы контроль равняется $2,6\pm 0,38$ с., у самок после овариоэктомии – $1,73\pm 0,39$ с. После введения овариоэктомизированным самкам 17β -эстрадиола достоверных различий с контрольной группой не обнаружено, следовательно, он не оказывает влияния на SWD. Далее нами исследовано влияние системного введения прогестерона и 17β -эстрадиола на уровень пик-волновой активности. На ЭЭГ, регистрируемое через три часа после инъекции 17β -эстрадиола с прогестероном, происходило нарастание количества и средней продолжительности пик-волновых разрядов: $4,17\pm 0,48$ и $3,36\pm 0,15$ с., соответственно. Возможно, это связано с эффектом эндогенных нейростероидов, которые вырабатываются в ответ на стресс инъекционирования. На пятый день количество SWD сократилось до $1,33\pm 0,21$, длительность одного комплекса в среднем составила $2,23\pm 0,25$ с., при $p<0,05$. В данном случае прогестерон следует рассматривать как антиконвульсант, т.е. благоприятно воздействует на течение судорожных состояний.

На основании полученных нами данных – анализа суммарной ЭЭГ, которая отражает функциональную активность популяций нервных клеток, т.е. функциональное состояние головного мозга, можно сделать заключение о том, что колебания уровней овариальных стероидов, несомненно, играют важную роль в деятельности головного мозга, влияя на пик-волновую активность его отдельных областей при абсансной эпилепсии, в частности переднего кортикального ядра миндалевидного комплекса мозга крыс.

СКОЛИОЗ У ДЕТЕЙ

А. П. Сайфуллин, А. В. Леонтьев

Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; sayfullin-a.p@mail.ru

Сколиотическая болезнь до сих пор остается серьезной проблемой современной ортопедии и является наиболее тяжелой патологией опорно-двигательной системы. Идиопатические сколиотические деформации позвоночника по распространенности занимают одно из первых мест в патологии опорно-двигательной системы у детей, причем за последние годы отмечается увеличение заболеваемости в среднем до 17,3%. Так в группе детей 4-6 лет количество больных со сколиозом составляет 3,9%, 7-10 лет – 21,56%, 11-14 лет – 74,54%. Процент больных с тяжелыми формами сколиоза составляет 0,6% [Kobyzev A.E., 2015]. Оперативное лечение, являющееся основным методом лечения пациентов детского возраста с тяжелыми деформациями, позволяет не только добиться стойкой коррекции искривления позвоночника, но и улучшить баланс туловища, обеспечить надежную стабилизацию, достигнутую при помощи многоопорной металлоконструкции, что в итоге улучшает качество жизни пациента [Vissarionov S.V., 2015]. Цель исследования – анализ трехмерной хирургической коррекции сколиотической деформации позвоночника, достигнутой с применением полисегментарного транспедикулярного инструментария.

Проведен ретроспективный анализ хирургического лечения 103 пациентов отделения нейрохирургии Университетской клиники (Институт травматологии и ортопедии) ФГБОУ ВО «Приволжского исследовательского медицинского университета» Минздрава России. Средний возраст $14,3 \pm 2,5$ лет (от 8 до 17 лет). Из них 17 мальчиков (16,5%) и 86 девочек (83,5%). Статистический анализ данных был выполнен с помощью пакета Microsoft Excel.

Локализация основной структуральной дуги в грудном отделе наблюдалась у 76 пациентов (73,8%), в поясничном отделе – у 27 пациентов (26,2%). В соответствии с классификацией Lenke (2001) у 58 пациентов был установлен тип Lenke 1 деформации позвоночника (56,3%), у 18 пациентов – тип Lenke 3 (17,5%), у 20 пациентов – тип Lenke 5 (19,4%) и у 7 пациентов – типа Lenke 6 (6,8%). Среднее исходное значение деформации основной дуги во фронтальной плоскости (угол Кобба) составило $66,4^\circ$ в диапазоне от 40° до 110° , грудного кифоза – $27,1^\circ$ в диапазоне от 10° до 60° , ротации апикального позвонка основной дуги – $23,9^\circ$ в диапазоне от 16° до $32,7^\circ$. Интраоперационная (после выполнения этапа релиза) «спонтанная» коррекция угла Кобба основной дуги составила $9,0 \pm 4,9^\circ$ (13,6%, $p < 0,001$), а деротация её апикального позвонка – $4,1 \pm 1,3^\circ$ (17,2%, $p = 0,027$). Итоговая (постинструментальная) коррекция основной дуги деформации во фронтальной плоскости составила $48,7 \pm 10,9^\circ$ (73,3%, $p < 0,001$), апикальная деротация – $7,6 \pm 3,9^\circ$ (31,8%, $p < 0,01$), а восстановление грудного кифоза – $9,2 \pm 7,8^\circ$ (24%, $p = 0,014$). Таким образом, на долю инструментального этапа пришлось 81,4% коррекции деформации во фронтальной, 100% – в сагиттальной и 45,9% – в аксиальных плоскостях.

Коррекция сколиотической деформации позвоночника у детей и подростков с использованием полисегментарного педикулярного инструментария статистически значимо достигается в трех плоскостях, а её средние значения во фронтальной, сагиттальной и аксиальной плоскостях, сопоставимы с большинством из недавних сообщений в литературе (Abul-Kasim et al., 2011, Nadirov et al., 2016; и др). Результаты исследования имеют научно-практическую значимость и требуют дальнейшего проспективного изучения с целью поиска оптимальной методики, которая обеспечит высокое качество жизни после операции и позволит эффективно корректировать сколиотическую деформацию позвоночника у детей на фоне продолжающегося роста.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ АЦИЛ-ЛИПИДНЫХ ДЕСАТУРАЗ У РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ

А. А. Селиванов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276, Москва,
ул. Ботаническая, 35; aselivanov123@yandex.ru

Устойчивость растений к гипотермии – одна из старейших проблем физиологии растений. Принято считать, что при воздействии гипотермии одним из главных повреждающих факторов является изменение текучести мембран. При снижении температуры мембраны переходят из жидкокристаллической фазы в фазу геля, что вызывает нарушение компартментации клеток и в конечном итоге приводит к их гибели. Температура фазового перехода липидов мембран снижается при наличии в составе липидов жирных кислот (ЖК) с одной или несколькими двойными связями. Двойные связи в ацильных остатках ЖК являются результатом работы ферментов-десатураз. Ферментативную активность десатураз померить непосредственно невозможно, однако об их активности можно судить по транскрипции соответствующих генов.

К настоящему времени в геноме *Arabidopsis thaliana* выявлено 24 гена десатураз и десатуразоподобных белков. Мы сосредоточили внимание на ацил-липидных десатуразах в связи с тем, что данный тип подробно изучен у сине-зеленых водорослей. Для исследования были выбраны гены *ADS2*, *FAD2*, *FAD3*, *FAD6*, *FAD7* и *FAD8*. Ген *ADS2* кодирует $\Delta 9$ -десатуразу, образующую первую двойную связь в молекулах ЖК. Группа $\Delta 12$ -десатураз катализирует образование второй двойной связи и кодируется генами *FAD2* и *FAD6*. Группа $\omega 3$ -десатураз катализирует образование третьей двойной связи и кодируется генами *FAD3*, *FAD7* и *FAD8*. Исползованные в работе гены десатураз кодируют белки, полностью покрывающие общую схему десатурации ЖК (последовательное образование двойных связей в ацильном остатке жирных кислот в положениях $\Delta 9$, $\Delta 12$, $\omega 3$).

Прежде всего, мы изучали изменение количества транскриптов в течение первых суток холодового закаливания при $+2^{\circ}\text{C}$. Обнаружили рост содержания транскриптов уже в первые часы закаливания у гена *ADS2*, кодирующего $\Delta 9$ -десатуразу, в несколько меньшей степени наблюдали рост содержания транскриптов генов *FAD2* ($\Delta 12$ -десатураза) и *FAD7* ($\omega 3$ -десатураза). Уровень содержания транскриптов генов *FAD3* и *FAD6* почти не изменялся, а у гена *FAD8* транскрипционная активность практически отсутствовала. Транскрипцию трех генов (*ADS2*, *FAD2*, *FAD7*), для которых был выявлен рост содержания мРНК, исследовали посуточно при помощи ПЦР в реальном времени. Показано, что уже после первых суток воздействия холода содержание мРНК гена *ADS2* увеличивалось более чем в 20 раз. Далее до конца периода закаливания наблюдалось плавное снижение содержания мРНК гена *ADS2*. На пятые сутки экспозиции содержание его транскриптов всего лишь в два раза превышало контрольное значение. Содержание транскриптов генов *FAD2* и *FAD7* в течение всего периода колебалось в очень небольших пределах. Выраженная активация гена *ADS2* в начале периода закаливания, по-видимому, объясняется важностью образования двойной связи в $\Delta 9$ -положении для обеспечения субстратами последующих реакций десатурации.

Мы предполагаем, что повышение содержания мРНК гена *ADS2* приводит к увеличению содержания соответствующих белков, что в итоге должно отразиться на липидном составе клеточных мембран и, как следствие, на способности растений переносить гипотермию.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 16-34-00967 мол_а.

ЦИТОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПРИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

А. А. Семенова, Л. И. Семенова, Г. П. Дробот, Т. П. Гажеева

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
sem_al.ru@mail.ru

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) является одним из наиболее распространённых заболеваний щитовидной железы. Несмотря на широкое распространение болезни, проблема хронического аутоиммунного тиреоидита мало изучена. Несмотря на существующее разнообразие диагностических критериев для определения нарушенной тиреоидной функции, существуют также малоизученные аспекты диагностики, в частности, изучение цитохимии клеточных ферментов и гранул, которые активно реагируют на гормональный дисбаланс при различных заболеваниях щитовидной железы. Глубокое изучение цитохимических сдвигов нейтрофильных лейкоцитов при различных заболеваниях щитовидной железы позволит определить новые диагностические критерии, которые можно будет использовать не только для диагностики, но и для прогнозирования состояния.

Исследование проводилось в ГБУ «Республиканский клинический госпиталь ветеранов войн» (РКГВВ) и на кафедре биохимии, клеточной биологии и микробиологии ИМиЕН МарГУ. В исследовании приняли участие 22 пациента РКГВВ женского пола от 34 лет до 81 года с диагнозом аутоиммунный тиреоидит (АИТ). Группу сравнения составили 10 практически здоровых пациентов сопоставимого с больными АИТ возраста и с подтвержденным отсутствием тиреоидной патологии. Объектом изучения была цельная кровь пациентов. Исследовали лейкоцитарную формулу и цитохимические особенности лейкоцитов (нейтрофилы и лимфоциты).

При анализе показателей лейкоцитарной формулы были найдены различия по процентному соотношению сегментоядерных нейтрофилов между больными АИТ и группой сравнения и значением лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ). Процентное соотношение с/я нейтрофилов при заболевании снижалось, это может говорить о снижении естественной резистентности организма. Наблюдалось повышение величин индексов лейкоцитарной интоксикации и ядерного сдвига, в основном за счет увеличения доли палочкоядерных нейтрофилов. Полученные данные лейкоформулы свидетельствуют об активизации воспалительного процесса и возможном отягощении заболевания. Цитохимический анализ показал различия в группах по активности миелопероксидазы (МПО), содержанию гликогена, липидов и катионных белков в нейтрофилах. У больных АИТ активность МПО в 5 раз ниже, чем у пациентов группы сравнения. Снижение активности МПО сопровождается падением резистентности организма к инфекциям, что является одним из ведущих факторов генерации патологического процесса. Содержание гликогена при заболевании повышается, что можно объяснить его мобилизацией в клетке для выполнения различных функций, в т.ч. фагоцитарной. Содержание липидов и катионных белков у больных АИТ напротив снижается, липидов в 1,2 раза, а белков в 1,5 раза. Снижение содержания катионных белков в нейтрофилах является одним из факторов риска к возникновению аутоинфекционных заболеваний.

Таким образом, цитохимический анализ крови пациентов показал угнетение общей неспецифической резистентности организма. Корреляционный анализ всех изученных параметров выявил различия в типах связи, их силе и направленности у больных АИТ в отличие от таковых группы сравнения, что говорит о функциональной перестройке клеток и организма в целом.

БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕПАТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ОНКОЗАБОЛЕВАНИЯХ

К. А. Семенова¹, Д. В. Пасынков², Г. П. Дробот¹

¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
petrova_pka@mail.ru

²Республиканский онкологический диспансер Республики Марий Эл, 424037, Йошкар-Ола,
ул. Осипенко, 22

Структурно-функциональные поражения печени являются наиболее распространенными и тяжелыми осложнениями противоопухолевой терапии. Поражение печени существенно влияет на исход основного заболевания и ухудшает качество жизни пациентов. Данная патология способна давать осложнения, а также переходить в полиорганную недостаточность. Важно подчеркнуть, что гепатотоксичность противоопухолевых препаратов вынуждает корректировать план лечения: снижать дозы химиопрепаратов вплоть до полной отмены, увеличивать интервал между курсами, что неблагоприятно сказывается на результатах терапии. Также развитие полиорганной недостаточности, как правило, у онкологических больных, является одной из причин летального исхода. Поэтому, изучение лекарственной гепатотоксичности и разработка на этой основе подходов к предупреждению и ограничению таких поражений представляются актуальной темой. Целью данной работы явилось изучение динамики величин некоторых биохимических показателей печени (функциональных проб) у пациентов, имеющих злокачественные образования и получающих химиотерапевтические препараты.

В результате проделанной работы можно отметить, что доза препарата по-разному влияет на биохимические показатели функциональных проб печени. Самый чувствительный показатель, меняющийся в ответ на увеличение дозы химиотерапевтических препаратов – это аспаргатаминотрансфераза (АСТ). Из исследуемых нами препаратов гепатотоксическое действие показали препараты: карбоплатин, лейковорин и фторуроцил. Обнаружена средняя корреляционная связь между дозой химиотерапевтических препаратов: карбоплатин, лейковорин, фторуроцил и активностью АСТ. По отношению к другим функциональным пробам печени корреляций не обнаружено. При попытке рассчитать уравнение (математическую модель) для оценки вероятности риска развития печеночной недостаточности в соответствии с полученными дозами препаратов было установлено, что изменение активности АСТ в зависимости от дозы карбоплатина, лейковорина и фторуроцила и изменение активности АЛТ в зависимости от дозы фторуроцила описывается кубическими моделями.

ВЫЯВЛЕНИЕ ПУТЕЙ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ В ПРИСУТСТВИИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОСЕНС

А. О. Сенатская, Е. А. Соколова, Н. Ю. Шилягина, А. А. Брилкина, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

seanna@bk.ru

Фотодинамическое воздействие оказывает цитотоксический эффект на клетки. Это вызывает дальнейшую гибель клеток апоптозом или некрозом. Процесс апоптоза, главным исполнителем которого является каспаза-3, наиболее предпочтителен для смерти клеток в организме. Целью работы является исследование развития процесса гибели клеток путем апоптоза или некроза при фотодинамическом воздействии на клетки линии А431.

Работа проводилась на клетках линии А431 (клетки эпидермоидной карциномы человека). В качестве фотосенсибилизатора использовался коммерческий препарат «Фотосенс» («НИОПИК», Россия), представляющий собой раствор смеси натриевых солей сульфированного фталоцианина алюминия (от ди- до тетразамещенного) в дистиллированной воде, итоговая концентрация раствора в питательной среде 5 мкМ.

Клетки выращивались в условиях CO₂-инкубатора (5% CO₂, 370С) на питательной среде ДМЕМ (ООО НПФ «ПанЭко», Россия). Для эксперимента клетки рассаживались на чашки Петри диаметром 6 см в двух повторностях (для инкубационного периода 4 часа и 24 часа) в количестве 400 тыс. клеток на одну чашку. Через сутки среда в чашках была заменена на среду ДМЕМ без сыворотки с фотосенсибилизатором. Клетки инкубировались 4 часа в условиях CO₂-инкубатора. После четырех часов инкубации среду в чашках заменили на среду ДМЕМ с добавлением 10% телячьей сыворотки. Далее проводили облучение клеток с помощью светодиодного излучателя. Излучатель представляет собой матрицу из 96 светодиодов с длиной волны 615–635 нм, позволяющих равномерно облучать клетки в 96-луночном планшете. Клетки подвергали фотодинамическому воздействию в дозах 5 Дж/см², 25 Дж/см², 50 Дж/см².

Для выявления апоптоза или некроза клетки окрашивались аннексином V связанным с FITC и йодидом пропидия (PI). В работе использовали набор FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I (BD Pharmingen, US). Аннексин V связывается с фосфатидилсеринем (маркером апоптотической гибели клеток), таким образом, окрашивая клетки, ушедшие в апоптоз. Некротическая гибель клеток отслеживалась с помощью йодида пропидия.

Анализ образцов проводили через 4 и 24 часа после фотодинамического воздействия методом проточной цитофлуориметрии с использованием проточного цитофлуориметра FACS Calibur (BD Biosciences, US). Для возбуждения FITC и PI использовали аргоновый лазер 488 нм, регистрацию флуоресценции FITC и PI проводили в диапазоне 515–545 нм (канал FL1) и 564–606 нм (канал FL2), соответственно. Для каждого образца набирали по 10000 событий.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в первые часы после облучения в дозе 50 Дж/см² значительная часть клеток погибла некрозом, однако в части клеток наблюдались ранние стадии апоптоза. К 24 часам после фотодинамического воздействия в клетках наблюдалась апоптотическая гибель. При облучении в дозе 5 Дж/см² и 25 Дж/см² зафиксирована аналогичная ситуация. Количество клеток, сохранивших жизнеспособность после облучения, было выше, однако основным механизмом гибели оставался некроз. Через 24 часа подавляющая часть оставшихся клеток демонстрировала признаки ранних стадий апоптоза.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-04-01676).

ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НАПРАВЛЕННЫХ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ КОМПЛЕКСОВ НАФ-DARPin В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ

Л. М. Сенча¹, А. Б. Воловецкий¹, Е. Л. Гурьев¹, А. Б. Костюк¹, Н. Ю. Шлягина¹,
С. Шанвар¹, А. В. Звягин^{1, 2}, И. В. Балалаева¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *luda-sencha@mail.ru*

²Университет Маккуори, 2109, Австралия, Сидней, Балаклава-роуд

В настоящее время оптические методы находят все более широкое применение в биомедицинских исследованиях, особенно в различных областях медицинской диагностики и при контроле эффективности терапии. Среди оптических методов интерес представляют прижизненные методы исследования, использующие излучение в области терапевтического окна прозрачности биотканей. Перспективной платформой для создания диагностических контрастирующих соединений представляются антистоксовы нанофосфоры (НАФ), обладающие уникальными оптическими свойствами. Целью данной работы являлось исследование биораспределения конъюгатов люминесцентных нанофосфоров с направляющим белковым модулем DARPin9-29 (НАФ-DARPin).

Объектами исследования были мыши-гибриды F1 (CBA x C57Bl/6j) (самки, масса 17–21 г). Конъюгаты вводились животным внутривенно в хвостовую вену однократно в трех различных дозах, а также трехкратно для исследования возможности накопления НАФ-DARPin в организме экспериментальных животных. Для исследования выведения НАФ-DARPin из кровеносного русла через различные промежутки времени у части животных забиралась проба крови из ретроорбитального синуса и с помощью оптической томографической системы определялся уровень фотолюминесценции НАФ-DARPin в пробе. Для исследования тканевого распределения НАФ-DARPin через различные промежутки времени после инъекции часть животных выводилась из эксперимента, органы извлекались и гомогенизировались в физиологическом растворе. В полученной суспензии также определялся уровень фотолюминесценции НАФ-DARPin. Анализ изображений проводился с помощью программы ImageJ. Для получения абсолютной концентрации НАФ-DARPin в крови, тканях и органах проводилась предварительная калибровка. Для этого к объему гепаринизированной крови контрольного животного, а также к суспензии органов и тканей, разведенной в физиологическом растворе, добавляли НАФ-DARPin в известной концентрации. Показано, что в диапазоне концентраций от 0,1 до 50 мкг/мл наблюдается линейная зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации НАФ-DARPin. Полученное уравнение аппроксимирующей прямой было использовано для расчета концентрации НАФ-DARPin в организме экспериментальных животных.

Результаты исследования показали, что выведение конъюгатов из организма экспериментальных животных происходило по экспоненциальному закону. Время циркуляции НАФ-DARPin в крови составило менее 24 ч. Органами-мишенями, в которых происходит аккумуляция НАФ-DARPin, являются печень и селезенка, а в почках, мышцах и коже конъюгат накапливается в минимальных количествах. При многократном введении выявлено накопление НАФ-DARPin в печени животных, сходная тенденция наблюдается в селезенке.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (договор № 14.Z50.31.0022).

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ, ГИПЕРТЕРМИИ И ИХ КОМБИНИРОВАНИЯ НА РЯД ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ РАСТЕНИЙ ГОРОХА

Я. В. Середнева, Ю. В. Сеницына, А. П. Веселов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
seredneva.yana@mail.ru

Использовались растения гороха посевного *Pisum sativum* сорта Альбумен, выращенные в климатической камере КВМ-240 (Binder, Германия), при температуре +23°C и 16-часовом световом периоде. Для генерации магнитного поля использовалась магнитотерапевтическая установка VL-2 (ElectroBiology Inc., США), создававшая импульсное низкоинтенсивное магнитное поле (ПеМП) со значением магнитной индукции 1,5 мТл, частотой магнитного поля в соленоиде 15 Гц. Длительность экспозиции 15, 30 мин. и 2 ч. Гипертермию (ГТ) (температуру и длительность) подбирали для каждого изучаемого параметра так, чтобы она максимально влияла на показатель, не будучи при этом летальной для объекта. Рассматривали влияние ПеМП и ГТ на следующие показатели: рост, содержание общих гидроперекисей и генерацию H₂O₂, активность каталазы, содержание фотосинтетических пигментов, скорость реакции Хилла, параметры флуоресценции хлорофилла.

ПеМП не влияло на рост надземной части растений гороха. Под воздействием ГТ прирост надземной части ингибировался и составлял 1,6±0,3 см за 4 дня. Предварительное выдерживание растений в ПеМП уменьшало ингибирующее влияние ГТ: прирост надземной части составлял 3,8±0,4 см (30 мин. ПеМП) и 6,6±0,4 см (2 ч. ПеМП). Получасовая обработка ПеМП снижала содержание гидроперекисей в хлоропластах на 16,6%, двухчасовая – на 22,7%. 15-мин. ГТ увеличивала концентрацию гидроперекисей на 39,6%. При предваряющем ГТ воздействии ПеМП наблюдалось снижение гидроперекисей на 12,1% относительно контроля. 30-мин. обработка ПеМП приводила к снижению продукции H₂O₂ на 19%. 30-мин. ГТ приводила к увеличению генерации H₂O₂ на 22%. Предварительная обработка ПеМП перед воздействием ГТ позволяла удержать результат на уровне контрольных значений. Статистическая обработка данных не показала достоверных различий 30-мин. экспозиции с контролем, но в каждом из экспериментов наблюдалось снижение показателя. 30-мин. обработка ГТ приводила к повышению активности каталазы на 32%. Предваряющая ГТ 30-мин. обработка ПеМП приводила к снижению активности каталазы на 33%. Снижение активности каталазы наряду с понижением содержания H₂O₂ говорит о том, что воздействие ПеМП не имело прооксидантного эффекта, а напротив, наблюдался антоксидантный эффект.

ПеМП не влияло на количество пигментов и их соотношение, ГТ снижала количество каротиноидов и повышала отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам. Предварительная обработка ПеМП снимала эффект ГТ – количество пигментов оставалось на уровне, сравнимым с контрольным. ПеМП не вызывало существенных изменений скорости реакции Хилла. ГТ приводила к значительному снижению скорости данного процесса. Предварительная обработка растений ПеМП в течение 30 мин. или 2 ч. перед ГТ препятствовало сильному снижению скорости реакции Хилла.

При воздействии ПеМП в фотосинтетическом аппарате происходили как положительные изменения: повышение эффективного квантового выхода, скорости потока электронов, снижение нефотохимического тушения (NPQ), так и отрицательные: снижение квантового выхода контролируемого рассеивания энергии. Воздействие ГТ было исключительно негативным. При предваряющей ГТ обработке ПеМП происходило снижение NPQ (положительный эффект), но одновременно наблюдались и негативные изменения: снижение максимальной флуоресценции хлорофилла, повышение квантового выхода неконтролируемого рассеивания энергии. Эти изменения говорят о повышении чувствительности фотосинтетического аппарата растений под воздействием ПеМП, что обуславливает включение защитных механизмов, способствующих адаптации к ГТ.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *DRAS1* С ПОМОЩЬЮ микроРНК***Е. А. Сивопляс*¹, *А. М. Куликов*²**¹Московский педагогический государственный университет, 125993, Москва, ул. Малая Пироговская, 1/1; *sivoplyas-ekater@mail.ru*²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26

Объектом исследований является ген *Dras1*, который кодирует белок Ras1, относящийся к семейству ферментов (малых ГТФаз), участвующих в клеточном делении. Ген *Dras1* является универсальным переключателем от рецепторов к транскрипционным факторам. Ген *Dras1* является самым известным протоонкогеном. Мутации в этом гене часто приводят к канцерогенезу. Высококонсервативный ген *Dras1* экспрессируется у всех эукариот от дрожжей до человека. Поэтому в качестве модели можно мы используем дрозофил. Изучение механизмов регуляции экспрессии гена *Dras1* может сыграть важную роль в изучении первичных причин патологической трансформации нормальных клеток в стволовые раковые клетки.

На данный момент получено множество данных о сигнальной роли белка Ras и о последствиях мутаций, связанных с инактивацией функциональных доменов, связанных с этим белком. А вот последствия изменения экспрессионной активности не изучены. Гиперэкспрессия гена *Ras* дает сходный эффект с мутациями, не позволяющими его инактивировать, при которых происходит неконтролируемый митоз и образуется опухоль. Для *Caenorhabditis elegans* (нематода) и человека показано участие микроРНК в регуляции экспрессии гена *Ras* (ортолога дрозофилинового гена *Dras1*). Используя *Drosophila melanogaster* в качестве модели, мы пытаемся оценить роль РНК в регуляции гена *Ras* и влияние мутаций, связанных с нарушением связывания с микро РНК, на пролиферативную активность, дифференцировку и впоследствии морфологические нарушения.

У видов разной степени филогенетической близости, в том числе у 11 близкородственных видов дрозофил группы *D. virilis* с помощью биоинформационного анализа в последовательности гена *ras1* были определены сайты связывания с микроРНК (miR-310 - miR-313, miR-92a, miR-92b). В серии экспериментов сейчас ведется подтверждение регуляции гена *Dras1* с использованием конструкции, содержащей репортерный ген EGFP (зеленый флуоресцирующий белок) под промотором Gal4, экспрессия которого кодируется в 3'-UTR сайтами связывания микроРНК. Зеленый флуоресцирующий белок широко используется в качестве светящейся метки в клеточной и молекулярной биологии для изучения экспрессии клеточных белков. Следующим этапом будет проведено редактирование генома *D.mel* с использованием системы редактирования геномов CRISPR-Cas9.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол_a.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И АДАПТАЦИОННЫЕ РЕАКЦИИ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЛИ НА ФОНЕ АДРЕНАЛОВОЙ ТОКСЕМИИ

К. Р. Сидей, Н. Ю. Янкитов, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kristina.sidey007@mail.ru

В настоящее время все чаще, как человек, так и животные сталкиваются с различного рода стрессовыми ситуациями, механизмы и последствия которых на данный момент изучены недостаточно. В связи с этим возникает потребность в повышении устойчивости к стрессам и мобилизации резервных ресурсов организма. Известно, что повышение неспецифической резистентности и формирование общих неспецифических адаптационных реакций организма лежит в основе действия электромагнитного излучения. Целью работы ставилось изучение действия НИЛИ на лейкоцитарную формулу крови, абсолютное содержание эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и лейкоцитов при моделировании стресса у животных.

В работе моделирование стресса проводили внутрибрюшинным введением адреналина крысам. Было сформировано 4 группы крыс: 1 группу облучали НИЛИ 10 мин в области теменной доли; животным 2 группы вводили адреналин в концентрации 0,1 мг/кг, 3 группы - вводили адреналин в концентрации 0,1 мг/кг, а затем через 30 минут облучали НИЛИ, контролем служили интактные животные (4 группа). Забор крови производили из подъязычной вены через час, сутки и неделю после воздействия. Во всех сериях была изучена лейкоцитарная формула крови и произведен подсчет лейкоцитарных индексов. Клинические показатели крови регистрировали на гемоанализаторе «Abacus Junior». Результаты обработаны статистически по Т-критерию Стьюдента.

Изучение лейкоцитарной формулы выявило, что воздействие НИЛИ на организм крыс не вызвало значимых изменений в содержании нейтрофилов и лимфоцитов по сравнению с интактными животными. При альтерации организма адреналином количество лимфоцитов статистически значимо уменьшилось, а количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов увеличилось. При действии НИЛИ на фоне адреналина наблюдалась нормализация в числе нейтрофилов и лимфоцитов через неделю после воздействия.

Подсчет лейкоцитарных индексов показал статистически значимое снижение индекса напряженности адаптации (ИНА), индекса иммунореактивности (ИИР) и ядерного индекса (ЯИ) в группе животных, подверженных альтерации, что свидетельствует о развитии стресс-реакции. Последующее действие НИЛИ на стрессированный организм привело к постепенному восстановлению значений индексов до уровня интактных показателей.

Исследование абсолютного количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и гематокрита показало снижение данных показателей в динамике эксперимента с наибольшим изменением к 1 неделе относительно показателей интактной группы. Самостоятельное действие НИЛИ вызывало однонаправленное с действием адреналина изменение исследуемых показателей, но только в первый час эксперимента с последующим восстановлением до контрольных значений. Влияние НИЛИ после действия адреналина, определило постепенное восстановление абсолютного количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и гематокрита к 1 неделе исследования.

Таким образом, действие НИЛИ вызывает недолговременное (1 час) изменение исследуемых показателей сонаправленное с действием адреналина с последующим их восстановлением до значений интактной группы, тогда как на фоне адреналина изменение показателей красной и белой крови регистрируется до конца эксперимента. Вероятно, НИЛИ приводит к развитию адаптационных процессов в организме, что проявляется в восстановлении клеточного состава крови и лейкоцитарных индексов.

ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ГЛИКОГЕНА И ЛИПИДОВ В ПСЕВДОЭОЗИНОФИЛАХ КРОВИ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК, ОБИТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО СТРЕССА

М. Н. Сидушкина, Т. Н. Рябчикова, А. О. Свинин, А. А. Ведерников, Г. П. Дробот

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
sidushkina2013@gmail.com

В настоящее время цитохимические методы активно используются в практике гематологических исследований для диагностики различных заболеваний, таких как миелолейкоз, гемолитические анемии, бактериальные и вирусные инфекции. Они также зарекомендовали себя при проведении биомониторинговых исследований при оценке состояния популяций различных видов позвоночных, в том числе и амфибий, чутко реагирующих на изменения в окружающей среде, включая и негативное действие антропогенных факторов. В данной работе представлены результаты изучения цитохимической активности гликогена и липидов в псевдоэозинофилах периферической крови некоторых видов амфибий.

Для оценки выбраны три вида зеленых лягушек комплекса *Pelophylax esculentus* (прудовая *Pelophylax lessonae*, съедобная *P. esculentus*, и озерная *P. ridibundus*), представляющих фоновые виды в Республике Марий Эл. Отлов особей был проведен в летний период 2017 г. Видовую принадлежность амфибий устанавливали по морфологическим признакам. Всего обследована 121 особь из 8 местообитаний: пос. Кугуван, пос. Ильинка, пгт Краснооктябрьский, пос. Нолька, пгт Медведево, г. Йошкар-Ола (микрорайон «Чихайдарово» и лесопарк «Сосновая роща»), а также условно-контрольная территория пос. Шушер (ГПЗ «Большая Кокшага»).

Цитохимическую активность гликогена оценивали в псевдоэозинофилах на мазках крови при проведении ШИК-реакции по Ман Манусу (1946) и Хотчкиссу (1948). Фосфолипиды выявляли в цитоплазме этих же клеток по методу Лизона (1960).

При сравнении содержания гликогена в псевдоэозинофилах крови амфибий, отловленных в разных местообитаниях, были найдены статистически значимые различия (критерий Краскелла-Уоллиса; $H=34,18$; $p<0,001$). Множественное сравнение выявило различия в содержании гликогена у *P. lessonae* из популяций, обитающих в окрестности пос. Краснооктябрьский и *P. esculentus* из водоемов пос. Кугуван ($p=0,001$) и *P. lessonae* из заповедника ($p=0,001$). Также найдены отличия в содержании гликогена у особей *P. ridibundus* из «Сосновой рощи» и *P. esculentus* из пос. Кугуван ($p=0,003$), а также у особей *P. ridibundus* из «Сосновой рощи» и *P. lessonae* из заповедника ($p=0,004$).

Содержание липидов в клетках крови амфибий из исследованных местообитаний у разных видов не отличается как при оценке цитохимического коэффициента ($H=0,88$; $p=0,829$), так и при сравнении процентного содержания положительно прореагировавших клеток ($H=2,49$; $p=0,478$).

Межвидовых различий *P. esculentus* и *P. lessonae* по величинам исследуемых показателей нами не выявлено обитающих в водоемах пос. Кугуван, в связи, с чем были сопоставлены данные по амфибий из других обследованных местообитаний. В ходе анализа было установлено снижение содержания гликогена в псевдоэозинофилах лягушек, обитающих в черте города (лесопарк «Сосновая роща» и пос. Краснооктябрьский) по сравнению с аналогичным показателем у особей из других местообитаний, в том числе и заповедника «Большая Кокшага». Можно предположить, что на популяции зеленых лягушек, обитающих на данных территориях, могут негативно влиять антропогенные факторы.

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИСТЬЕВ ЯЧМЕНЯ В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ КОЛОСА

О. С. Синенко, А. А. Ермошин, И. С. Киселева

Уральский федеральный университет, 620000, Екатеринбург, ул. Мира 19;
olga_sinenko@list.ru

Созревание колоса – самый важный этап развития хлебных злаков. Листья верхних ярусов у них являются основными источниками ассимилятов для формирующегося колоса. Поэтому изучение изменений в функционировании этих листьев в ходе налива зерновок имеет большее фундаментальное и практическое значение. Известно, что, начиная с периода колошения, листья на главном побеге злаков начинают стареть. В связи с этим важно знать, насколько глубокими в каждом из верхних листьев являются изменения, связанные со старением. Очевидно, что увеличение продолжительности жизни листьев может стать важным фактором продукционного процесса у злаков.

Работа выполнена на растениях ячменя *Hordeum vulgare* сорта Ача, выращенных в открытом грунте. Для изучения были взяты три верхних листа растения: флаговый, предфлаговый и третий сверху. Измерение скорости фотосинтеза проводили с помощью Li-COR 6400 (США) при интенсивности светового потока $1200 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, температуре $+23^\circ\text{C}$ и естественной концентрацией CO_2 . Показатели мезоструктуры листа определяли по методике Борзенковой, Храмцовой (2006). Расчет содержания хлорофиллов и каротиноидов проводили по Lichtenthaler (1987) для 80% ацетона. Измерения проводили в 5–6 биологических повторностях.

Флаговый лист позднее двух других верхних появляется на побеге и является, таким образом, самым молодым на растении. Его поверхность еще не полностью сформирована к периоду колошения, тогда как площадь предфлагового и третьего сверху листа уже не увеличивается. Было определено изменение числа клеток и их объемов от стадии трубкования до стадии восковой спелости зерновок. Показано, что число клеток у флагового листа от стадии трубкования к стадии колошения увеличилось на 20%, а у предфлагового на 7%, и далее не изменялось. В третьем листе число клеток не изменилось уже со стадии трубкования. Объем клеток флагового листа за этот период увеличился на 35%, а у предфлагового на 5%. Число и объем хлоропластов при этом достоверно не изменились.

По мере старения листьев в них уменьшалось содержание фотосинтетических пигментов. У флага от стадии трубкования до стадии восковой спелости содержание хлорофилла *a* уменьшилось в 5,5 раз, хлорофилла *b* в 6 раз, а каротиноидов в 3 раза; у предфлага, соответственно, в 5, 7 и 4 раза; у третьего сверху листа от стадии трубкования до стадии молочной спелости содержание хлорофилла *a* уменьшилось в 5 раз, хлорофилла *b* в 6,4 раза, а каротиноидов в 3,6 раза. После фазы молочной спелости рабочая поверхность листа уменьшилась более, чем в 2 раза.

На стадии трубкования интенсивность фотосинтеза флагового и предфлагового листьев была практически одинакова и составила $73,8 \pm 4,6 \text{ мкмоль } \text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, у третьего на 10% меньше. К стадии колошения разница в фотосинтезе флага и третьего листа увеличилась до 41%, а к молочной спелости 63%. Разница в интенсивности ассимиляции CO_2 между флагом и предфлагом со стадии колошения до стадии молочно-восковой спелости составила 30%.

Таким образом, у ячменя из трех верхних листьев флаговый и предфлаговый являются основными источниками ассимилятов, стареют медленнее других листьев. Увеличение продолжительности жизни этих листьев может явиться важным резервом повышения продуктивности у ячменя.

ФИТОПЛАНКТОН ОЗЕРА КЛЮЧИК (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ) В ЛЕТНИЙ СЕЗОН 2017 ГОДА

К. О. Скамейкина, Е. Л. Воденеева

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kskameykina@bk.ru

Изучение биологического разнообразия водных экосистем – одно из актуальных направлений современных научных исследований, так как в большинстве индустриально развитых регионах России генофонд гидробионтов стремительно сокращается и для того, чтобы поддерживать биологическое разнообразие, необходимо не только обеспечить охрану водоемов, а также восстановить их естественный облик. Среди озер Среднего Поволжья, включающего Нижегородскую область, единично встречаются уникальные в гидрологическом и бальнеологическом отношении солоноватоводные карстовые озера, альгофлора которых исследована слабо.

Среди этих озер повышенный интерес для исследования представляет оз. Ключик, расположенное в Павловском районе Нижегородской области. Водоем относится к солоноватоводным карстовым озерам, данный тип водоемов составляет всего 0,1% от общего числа озер Нижегородской области. Озеро характеризуется наличием четкого экотона по гидрохимическому градиенту: левая часть озера является сульфатной, а правая – гидрокарбонатной. Кроме того, в питании озера принимает участие подземная река Сурин, в истоке которой расход воды составляет 4210 л/с.

Материалом для работы послужили интегральные пробы фитопланктона, собранные с оз. Ключик в летний сезон 2017 г. Отбор проб проводился на пяти станциях, выбранных с учетом гидрохимических особенностей водоема (станции 1, 2 – в сульфатной части озера, станция 3 – в зоне экотона, станции 4, 5 – гидрокарбонатная часть). Всего за период исследования в оз. Ключик выявлено 63 видовых и внутривидовых таксона водорослей, которые относились к 8 отделам: Bacillariophyta (71,9% общего видового списка), Chlorophyta (15,6%), Chrysophyta Cyanophyta (по 3,1%), Raphidophyta, Euglenophyta, Cryptophyta и Dinophyta (по 1,6%). Спектр ведущих родов формировали *Pinnularia*, *Gomphonema* и *Navicula*. Наиболее низким таксономическое разнообразие оказалось на станции 1.

Численность и биомасса фитопланктона оз. Ключик варьировали от 0,88 до 132,41 млн кл/л и от 2,93 до 455,56 г/м³ соответственно. Максимальные значения численности и биомассы отмечались на станции 3, расположенной в зоне экотона, превышая таковые показатели на других станциях до 156 раз.

Основными доминантами на станции 1 выступали диатомовые водоросли из родов *Cyclotella*, *Pinnularia* и *Navicula radiosa* Kutz. На других станциях состав доминирующих форм был более разнообразным. Кроме перечисленных выше представителей, на станции 2 в перечне ведущих отмечались *Spirogyra* sp., *Melosira* sp. и *Gomphonema constrictum* var. *capitatum*; на станции 3 – *Spirogyra* sp., *Gomphonema* sp., *Nitzschia gracilis* и *Synedra ulna*; на станции 4 – *Dinobryon sociale*, *Pinnularia episcopalis*, *Nitzschia denticula*, *N. gracilis*, *Cymbella cistula* и *Surirella linearis*. В гидрокарбонатной части озера (на станции 5) были заметны *Dinobryon divergens*, *D. sociale* и виды из рода *Nitzschia*.

Таким образом, альгофлору исследуемого водоема можно охарактеризовать как диатомово-зеленую, что является типичным для большинства озёр умеренной полосы. В перечне ведущих родов отмечались *Pinnularia*, *Gomphonema* и *Navicula*. Степень развития фитопланктона была неоднородной по акватории водоема и оказалась максимальной в зоне экотона. Трофический статус данного водоёма по станциям варьировал от олиготрофного до высокоэвтрофного уровня.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ IGM К *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *CYTOMEGALOVIRUS*, *MYCOPLASMA HOMINIS* И *HERPES SIMPLEX VIRUS* У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

***В. В. Скворцова*¹, *Е. И. Крестова*², *М. Ю. Лебедев*²**

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
lera01_09_94@mail.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603155,
Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18

Врожденные патологии соединительной ткани являются одними из часто встречаемых патологий, которые тяжело поддаются лечению. Частота встречаемости врожденной косолапости и врожденного вывиха бедер в России - 2-5 случаев на 1000 новорожденных. Этиология данных патологий остается не до конца изученной. На сегодняшний день одной из теорий формирования врожденной косолапости и вывиха бедра является внутриутробное инфицирование оппортунистическими инфекциями плода. Для подтверждения данной гипотезы у новорожденных детей с данными патологиями опорно-двигательного аппарата определяют видоспецифические IgM к *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Mycoplasma hominis* и *Herpes simplex virus*. Это позволяет выяснить причины развития этой патологии у детей и в будущем разработать меры профилактики и ранней диагностики. Целью исследования явилось обнаружение IgM к *C. trachomatis*, *CMV*, *M. hominis* и *HSV* в сыворотке крови у пациентов с врожденной косолапостью и с врожденным вывихом бедра.

Было исследовано 20 образцов сыворотки крови пациентов с врожденной косолапостью и 20 образцов сыворотки крови пациентов с врожденным вывихом бедра. Наличие видоспецифических IgM к *C. trachomatis*, *CMV*, *M. hominis* и *HSV* определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Вектор-Бест» (Россия). Статистическая обработка проводилась с использованием программы Microsoft Excel 2007. Частота встречаемости IgM к указанным возбудителям выражалась в процентах.

Обнаружено наличие видоспецифических IgM к *C. trachomatis* в 3 случаях из 20 в исследуемых образцах сыворотки крови детей с врожденной косолапостью, что составило 15% и в 4 случаях из 20 в исследуемых образцах сыворотки крови детей с врожденным вывихом бедра, что составило 20%. Также выявлено наличие видоспецифических IgM к *CMV* в 6 случаях из 20 в исследуемых образцах сыворотки крови детей с врожденной косолапостью, что составило 30% и в 3 случаях из 20 в исследуемых образцах сыворотки крови детей с врожденным вывихом бедра, что составило 15%. Видоспецифических IgM к *M. hominis* и *HSV* в исследуемых образцах не было выявлено.

Полученные данные позволяют предполагать, что *C. trachomatis* и *CMV* участвуют в патогенезе врожденных заболеваний соединительной ткани. Тем не менее, необходимо дальнейшее исследование группы здоровых детей и сравнение полученных значений с показателями групп наблюдения.

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОРАСТАНИЕ ОВСА ПОСЕВНОГО

Н. А. Смирнова, Е. А. Скочилова

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
nataliya.smirnova.9696@mail.ru

В результате развития промышленности, возрастает антропогенная нагрузка на окружающую среду, что приводит к увеличению содержания тяжелых металлов в почве. В условиях загрязнения почв тяжелыми металлами особенно актуальными становятся вопросы, связанные с адаптацией к ним живых организмов, в частности растений. В связи с этим, целью данного исследования являлось изучение влияния тяжелых металлов на энергию прорастания и всхожесть семян овса посевного.

Исследования проводили в течение вегетационного периода 2017 г. в различных районах Йошкар-Олы (Республика Марий Эл). Для изучения были выбраны следующие районы исследования: район условного контроля – ООПТ лесопарк «Сосновая роща», район слабого загрязнения – территория Центра лабораторного анализа и технических измерений, район умеренного загрязнения – АО «ОКТБ Кристалл». В ходе работы проведены отборы почвенных проб, в почвенных образцах анализировали содержание подвижных форм тяжелых металлов. Массовую долю металлов в порошковых пробах почв определяли методом рентгенфлуоресцентного анализа. Для оценки степени загрязнения урбанизированных территорий тяжелыми металлами проведено биотестирование по энергии прорастания и всхожести семян овса посевного. Овёс посевной (*Avena sativa*) – однолетнее травянистое растение семейства мятликовые (Poaceae). Согласно ГОСТ 12038-84 энергию прорастания овса посевного определяли на 4 сутки, всхожесть – на 7 сутки после посева. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программы Statistica 6.0. Достоверность различий оценивали по распределению Стьюдента на доверительном уровне 95%.

Проведенный анализ почвы на наличие тяжелых металлов в районе условного контроля показал, что содержание изученных тяжелых металлов находится в пределах ПДК. В районах слабого и умеренного загрязнения обнаружено превышение ПДК по количеству Co, Ni, Zn, Cu, Pb в почве. В районе слабого загрязнения количество тяжелых металлов в почве было больше, по сравнению с районом условного контроля: Co – в 1,2, Ni – в 2,3, Zn – в 1,5, Cu – 2,6, Pb – 1,6 раза. В районе умеренного загрязнения содержание подвижных форм тяжелых металлов в почве было выше, чем в районе слабого загрязнения: Co – в 1,3, Ni – в 5,0, Zn – в 2,4, Cu – 5,7, Pb – 1,1 раза. При таком высоком уровне загрязнения почвы тяжелыми металлами эти физиологически необходимые растениям элементы выступили в качестве токсикантов. По содержанию тяжелых металлов в почве между районами исследования обнаружена статистически значимая разница.

Тяжелые металлы поступают в почву различными путями, накапливаются в ней и поглощаются растениями. Однако, высокие концентрации тяжелых металлов приводят к угнетению роста и развития растений. В районе условного контроля энергия прорастания и всхожесть овса посевного составили 63% и 91% соответственно. При загрязнении почвы тяжелыми металлами наблюдалось снижение данных показателей. В районе слабого загрязнения данные показатели были зафиксированы на уровне 45% и 72%. Наименьшие значения энергии прорастания и всхожести овса посевного обнаружены в районе умеренного загрязнения, что составило 27% и 57% соответственно. Статистический анализ выявил значимую разницу по энергии прорастания и всхожести семян овса посевного между районами исследования.

Таким образом, увеличение содержания тяжелых металлов в почве приводило к уменьшению энергии прорастания и всхожести семян овса посевного.

СОЗДАНИЕ НАНОКОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

*А. С. Смышляева*¹, *Е. Л. Гурьев*¹, *В. А. Воденев*¹, *С. М. Деев*^{1,2}, *А. В. Звягин*^{1,3}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

smysh.anita@gmail.com

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

³Университет Маккуори, 2109, Австралия, Сидней, Балаклава-роуд

В настоящее время активно разрабатываются новые стратегии и подходы для тераностики, объединяющей высокоточную диагностику и таргетную терапию онкологических заболеваний. Особое внимание исследователей уделяется методам на основе биогибридных фотолюминесцентных нанотехнологий, а именно сборке тераностических наноконплексов посредством соединения неорганического наноматериала – наночастиц – с молекулами биополимеров.

Целью данной работы являлось создание многофункциональных тераностических наноконплексов (МТН) на основе антистоксовых нанофосфоров (НАФ) и направляющих белков. Люминесценция НАФ в видимой и инфракрасной областях спектра позволяет использовать их для эффективного и безопасного имиджинга биологических объектов. В качестве платформы для сборки были использованы неорганические фотолюминесцентные нанокристаллы состава $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}$, покрытые оболочкой из оксида кремния - силикой, и $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+}$, покрытые полиакриловой кислотой (ПАК). Исследование их фотофизических свойств и гидродинамического диаметра проводилось методами динамического светорассеяния и оптическими методами регистрации фотолюминесценции. Было определено, что НАФ как с SiO_2 , так и с ПАК-модифицированными поверхностями являются подходящей основой для сборки МТН.

Для придания адресности НАФ в качестве направляющего модуля нами был выбран альтернативный каркасный белок из класса дарпинов (DARPin – Designed Ankyrin Repeat Proteins – альтернативные каркасные белки с анкириновыми повторами), специфичный к онкомаркеру HER2 – DARPin-9-29. Присоединение данного белка осуществляли методом химического перекрестного связывания с использованием линкеров нулевой длины. Показано, что полученные конъюгаты сохранили неагрегированное состояние и фотолюминесцентные характеристики.

Таким образом, в данной работе были получены стабильные таргетные наноконплексы, которые позволяют в дальнейшем использовать их для исследования специфичности связывания с рецептором HER2 путем экспериментов на клеточных культурах, а также могут быть модифицированы путем включения в их состав терапевтических модулей – радиоактивного иттрия-90 и/или бактериального токсина с целью исследования терапевтического потенциала создаваемого МТН.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (договор № 14.Z50.31.0022).

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА И ГЕПАРИНА НА АКТИВНОСТЬ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Д. В. Соловьев, А. Е. Хомутов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Dan.smerch@yandex.ru

Гепарин – активатор и ингибитор ряда ферментных систем организма. Как и другие кислые мукополисахариды, гепарин, образуя в качестве макроанионов комплексы с белками, приводит к сдвигу изоэлектрической точки. Это может быть причиной как торможения, так и активации большого числа ферментных систем. Он способен тормозить активность аденилдезаминазы, β -аминазы, дезоксирибонуклеазы, эластазы, фумаразы, β -глюкуронидазы, гепариназы, катепсина, лецитазы А, лизоцима, пепсина, щелочной и кислой фосфатазы, фосфомонэстеразы эритроцитов, протеазы, щелочной и кислой РНК-азы, стафилокоагулазы, трипсина, химотрипсина и др. Гепарин стабилизирует пероксидазу лейкоцитов. Ряд авторов отмечали активацию под влиянием гепарина нейтральных протеаз, трансаминаз, глутаминазы, усиление активности цитохромоксидазы и ряда НАД-зависимых дегидрогеназ в сердце. Обнаружена активация НАД-зависимых дегидрогеназ в печени, угнетение активности флавинзависимых дегидрогеназ в мышце сердца и печени, ингибирование перекисного окисления липидов и активности лизосомальных ферментов в печени, особенно у старых животных.

Исследование активности алкогольдегидрогеназы (АДГ) в митохондриальной и цитоплазматической фракциях клеток печени крыс показало, что после внутрибрюшинного введения животным этанола у них наблюдалось в основном повышение активности данного фермента. В митохондриальной фракции активность АДГ в прямой реакции составила $114,1 \pm 8,6$ нмоль/мин на мг белка, что достоверно выше по сравнению с контролем в 1,8 раза, в обратной – $181,8 \pm 17,6$ нмоль/мин на мг белка, что также достоверно выше данных контрольной группы в 1,9 раза. В цитоплазматической фракции клеток печени активность фермента в прямой реакции составила $183,1 \pm 22,1$ нмоль/мин на мг белка, что достоверно выше по сравнению с контролем в 1,3 раза. Достоверных отличий по алкогольдегидрогеназной активности в обратной реакции в цитоплазматической фракции между группой этанола и контролем обнаружено не было.

Также наблюдались изменения активности АДГ в митохондриальной и цитоплазматической фракциях клеток печени крыс в группе гепарин + этанол. Введение животным этанола при предварительном введении гепарина приводило в основном к снижению активности данного фермента. Так, в митохондриальной фракции показатель активности фермента в прямой реакции составил $44,6 \pm 5,2$ нмоль/мин на мг белка, что достоверно ниже по сравнению с показателями контроля в 1,4 раза. В цитоплазматической фракции клеток печени активность АДГ в прямой реакции в группе гепарин + этанол составила $43,6 \pm 2,9$ нмоль/мин на мг белка, что достоверно ниже по сравнению с контролем в 3,1 раза, в обратной – $134,5 \pm 8,1$ нмоль/мин на мг белка, что также ниже данных контрольной группы в 1,6 раза. Повышение активности АДГ наблюдалось в обратной реакции в митохондриальной фракции клеток печени. Здесь показатель активности фермента составил $245,0 \pm 9,1$ нмоль/мин на мг белка, что достоверно выше контрольных показателей в 2,5 раза. Кроме того, предварительное введение животным гепарина в дозе 250 МЕ/кг приводило к снижению значений активности АДГ в митохондриальной и цитоплазматической фракциях клеток печени крыс группы гепарин + этанол по сравнению с группой, которой вводился этанол. В митохондриальной фракции показатель ферментативной активности в прямой реакции был достоверно ниже данных группы этанола в 2,6 раза. В цитоплазматической фракции клеток печени активность алкогольдегидрогеназы в прямой реакции в группе гепарин + этанол была достоверно ниже по сравнению с показателями группы этанола в 4,2 раза, в обратной – также достоверно ниже данных группы этанола в 1,4 раза.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ КРОВИ ЯДОВИТЫХ И НЕЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ ВОЛГО-УРАЛЬСКОГО БАССЕЙНА

Е. И. Соломайкин, Е. Б. Романова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
e7v4gen5iy@yandex.ru

В адаптации к условиям среды непосредственно участвует, наряду с нервной и эндокринной системами, индикаторная система крови, поэтому изменения иммуногематологических параметров отражает адаптивный потенциал и физиологическое состояние живых организмов. При значительном объеме исследований по морфологии и экологии змей, ограничены работы, посвященные исследованиям их врожденного и адаптивного иммунитета. Между тем изучение механизмов иммунной защиты природных популяций змей, находящихся под воздействием комплекса биотических и абиотических факторов среды (инфекций, паразитов, загрязняющих веществ, температуры, содержанию в неволе), имеет большой научный потенциал и представляет важный шаг на пути к детальному исследованию иммуногематопоэза этих животных.

Цель работы: оценка интегральных лейкоцитарных показателей крови змей сем. ужеобразных (Colubridae) и гадюковых (Viperidae), отловленных на территории Волго-Уральского бассейна и родившихся в условиях серпентария Института экологии РАН, Тольятти.

На территории Волго-Уральского бассейна, были отловлены в полевой сезон 2017 г. гадюка обыкновенная (*Vipera b. berus*, Самарская обл.); гадюка Никольского (*V. b. nikolskii*, Саратовская обл.); гадюка Башкирова (*V. renardi bashkirovi*, Самарская обл.); полоз узорчатый (*Elaphe dione*, Оренбургская обл.). По общепринятым гематологическим методикам были взяты образцы крови и приготовлены мазки (окраска по Романовскому – Гимзе). С учетом морфологических особенностей определяли шесть типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (азурофилы, моноциты, лимфоциты). На основании лейкоцитарной формулы крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы. Анализ данных проводили методами непараметрической статистики с расчетом критериев: Краскела-Уоллиса, Дана, методом главных компонент. За величину статистической значимости принимали $p=0,05$.

Классификация объектов исследования по совокупности иммуногематологических показателей позволила выявить наиболее информативные. Наибольший вклад в дискриминацию по лейкоцитарному составу крови гадюк вносят азурофилы, гетерофилы и эозинофилы. По исследованным гематологическим показателям полоз узорчатый располагался в факторном пространстве удаленно от всех выборок ядовитых змей. Гадюки одного подвида оказались наиболее близки по набору исследованных показателей и занимали первый квадрант. Во втором квадранте располагались неполовозрелые особи, отличающиеся от самок пониженным содержанием в крови гетерофилов и азурофилов. Самки *V. r. bashkirovi* занимали третий квадрант, что свидетельствовало о видоспецифической адаптивной реакции этого вида змей.

Таким образом, по исследованным гематологическим показателям между выборками ядовитых и неядовитых змей наблюдаются значительные различия.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПОРФИРАЗИНОВОЙ ПРИРОДЫ СО СВОЙСТВАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА

С. С. Сороко¹, А. Б. Воловецкий¹, С. А. Лермонтова^{1, 2}, Л. Г. Клашина^{1, 2}, В. И. Плеханов³,
И. В. Балалаева¹, В. А. Воденев¹, Н. Ю. Шилягина¹

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина 23;
kastarashan@gmail.com

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, Россия, ул. Тропинина, 49

³Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Одним из недостатков фотодинамической терапии (ФДТ) на сегодняшний день является отсутствие возможности индивидуализации параметров воздействия и раннего контроля эффективности проведенной терапии. Для решения этой проблемы предлагается использование флуорофоров, сочетающих свойства фотосенсибилизаторов (ФС) и флуоресцентных зондов локальной вязкости. Целью данной работы являлся мониторинг ответа опухолевой ткани на фотодинамическое воздействие в эксперименте на животных-опухоленосителях путем изменения времени жизни флуоресценции ФС порфиразиновой природы (тетра(4-фторфенил)тетрацианопорфиразина, Pz), чувствительного к изменению локального микроокружения.

Для эксперимента были выбраны мыши линии Balb/c, которым подкожно прививалась опухоль СТ-26. Порфиразин вводился через хвостовую вену в размере 15 мг/кг веса животного. Фотодинамическое воздействие осуществляли на опухоль светодиодной установкой (640 нм, 150 Дж/см²). На протяжении всего эксперимента проводилось измерение времени жизни возбужденного состояния Pz в опухоли и нормальной ткани с помощью установки для время-коррелированного счета одиночных фотонов.

В результате было показано что Pz является эффективным агентом для ФДТ, так как у опытной группы в сравнении с контролем зарегистрировано значительное уменьшение объемов опухолевого узла (10–20 раз). Наблюдалась полная регрессия опухолевого узла в течение 4 недель после фотодинамического воздействия, коэффициент торможения опухолевого роста экспериментальной группы составил около 95%. Отмечено увеличение времени жизни возбужденного состояния Pz после проведения ФДТ в 1,5–2 раза, при отсутствии статистически значимых изменений времени жизни возбужденного состояния Pz у групп, которые не подвергались лечению.

Таким образом, сочетание свойств ФС и флуоресцентного зонда локального микроокружения для Pz может стать основой для принципиально нового подхода при проведении ФДТ, при котором функциональное состояние опухолевых клеток при проведении лечения контролируется по изменению времени жизни возбужденного состояния флуорофора.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект МК 980.2017.4, проект № 14.Z50.31.0022).

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

Е. А. Старикова, О. Л. Воскресенская

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
katya-starikova@mail.ru

Городской среде характерно своеобразие экологических факторов, специфичность техногенных воздействий, способствующих различным изменениям окружающей среды. Воздействие загрязняющих веществ приводит к ухудшению состояния растений. В качестве биоиндикаторов загрязнения среды используют древесные растения. Объектами исследования являлись хвойные растения – ель колючая (*Picea pungens*) и туя западная (*Thuja occidentalis*). Целью исследования являлось изучение морфофизиологических показателей хвойных растений в условиях городской среды. Исследования проводились в следующих функциональных зонах г. Йошкар-Олы, различающихся уровнем антропогенного воздействия – парковая зона (ЦПКиО им. ХХХ-летия ВЛКСМ), жилая зона (ул. Машиностроителей), промышленная зона (ул. Строителей). Сбор образцов хвои второго года жизни проводили со средневозрастных генеративных растений. Для оценки морфофизиологических параметров исследуемых видов хвойных растений использовали следующие показатели: морфометрические параметры, содержание хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов определяли спектрофотометрически в 100%-ной ацетоновой вытяжке, активность каталазы – титрометрическим методом, активность пероксидазы – методом А.Н. Бояркина (1951). Полученные результаты обработаны статистически с помощью программы STATISTICA 6.0.

В ходе работы выяснили, что при увеличении уровня загрязнения у растений как туи западной, так и ели колючей морфометрические показатели уменьшались в среднем в 1,4 раза, длина хвои была короче в 1,2 раза, по сравнению с растениями, произрастающими в парковой и жилой зонах.

Результаты проведенных исследований пигментного состава хвои растений ели колючей и туи западной, произрастающих в Йошкар-Оле, позволили установить, что в промышленной зоне города содержание пигментов (хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов) уменьшается по сравнению с растениями, произрастающими в парковой зоне. Содержание хлорофилла *a* в хвое исследуемых видов деревьев, произрастающих в парковой зоне было в 1,4 раза больше по сравнению с промышленной зоной ($p < 0,05$). Аналогичная картина наблюдалась и по содержанию хлорофилла *b* в хвое как *T. occidentalis*, так и *P. pungens*. В хвое деревьев, произрастающих в промышленной зоне Йошкар-Олы, его содержание было меньше в 1,9–2,0 раза по сравнению с другими зонами. Статистически значимых различий по содержанию каротиноидов в хвое ели колючей из разных зон города не обнаружено ($p > 0,05$). Содержание желтых пигментов в хвое туи западной, произрастающей в парковой зоне, было в 1,4 раза выше по сравнению с промышленной зоной.

Также нами исследована активность окислительно-восстановительных ферментов (каталазы и пероксидазы). Изучая активность каталазы хвойных растений на территории Йошкар-Олы, выявили, что наибольшая активность фермента у исследуемых видов растений наблюдалась в парковой зоне, а в промышленной зоне города активность фермента была ниже в 1,7 раза. Активность пероксидазы в хвое данных видов растений, произрастающих в промышленной зоне, увеличилась: у *T. occidentalis* – в 1,9 раза, у *P. pungens* – в 2,0 раза. Выяснили, что ингибирование активности каталазы, сопровождается повышением другого фермента – пероксидазы.

Таким образом, полученные результаты показали, что у растений, произрастающих в промышленной зоне Йошкар-Олы, произошло уменьшение морфометрических показателей, снижение количества зеленых и желтых пигментов, активности каталазы, одновременно активность пероксидазы увеличилась. Следовательно, исследуемые показатели можно использовать при биоиндикации состояния урбосреды.

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА БЕДАКВИЛИНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

В. С. Старинец¹, К. С. Теньков¹, М. В. Дубинин¹, Е. Ю. Таланов², Н. В. Белослудцева²,
К. Н. Белослудцев^{1,2}

¹Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
vlastar@list.ru

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино
Московской обл., ул. Институтская, 3

Бедаквилин – антимикробный препарат нового поколения, оказывающий бактериостатическое и бактерицидное действие на возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis*. Действие препарата обусловлено специфическим ингибированием F1/F0 АТФ-синтазы микобактерий. Это приводит к нарушению процесса окислительного фосфорилирования, синтеза АТФ и в конечном счете – к гибели бактериальной клетки. Обладая бактерицидным действием, противотуберкулезные препараты так же могут оказывать влияние на клетки эукариот, вызывая побочные эффекты. Изучение такого воздействия является важным фактором при внедрении противомикробных препаратов в медицинскую практику. Действительно, данные, представленные в литературе, указывают на два возможных механизма действия бедаквилена на эукариотические клетки: влияние на энергетику клетки и функционирование мембранных структур. Можно предположить, что являясь амфифильным катионом, бедаквилин способен непосредственно взаимодействовать с липидной составляющей мембраны. Известно, что такого рода взаимодействия могут лежать в основе нарушения функционирования биологических мембран. Поэтому в настоящей работе было исследовано влияние бедаквилена на функционирование митохондрий печени крыс.

Показано, что бедаквилин дозо-зависимо (10-50 мкМ) ингибирует дыхание митохондрий печени крыс на субстратах I (глутамат/малат) и II (сукцинат/ротенон) комплексов во всех метаболических состояниях. В то же время бедаквилин практически не влияет на активность комплексов дыхательной цепи митохондрий, и лишь незначительно подавляет суммарную активность II+III комплексов. Установлено, что бедаквилин ингибирует образование перекиси водорода митохондриями печени крыс. Кроме того, бедаквилин является ингибитором Ca²⁺ зависимой циклоспорин А-чувствительной МРТ поры. Это проявляется в подавлении Ca²⁺/Pi-зависимого набухания митохондрий и увеличении Ca²⁺ емкости митохондрий печени крыс. Бедаквилин также снижал скорость транспорта K⁺ митохондриями и АТФ-зависимое набухание органелл. Полученные результаты в настоящей работе позволяют говорить о множественном действии бедаквилена на митохондрии. Он приводит к ингибированию многих митохондриальных как физиологических, так и патологических процессов – дыхания, образования активных форм кислорода, калиевого транспорта и МРТ поры.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания № 6.5170.2017/8.9, а также при поддержке РФФИ и правительства Московской области (проект № 17-44-500584).

АКУСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ УПРУГОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ В КОМПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АНЕМИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

А. И. Стародумова, М. А. Калинина, А. И. Самойлова, Т. С. Низова, Т. А. Веселова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
starodumovasa@gmail.com

Заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) часто сопровождаются анемией. Наиболее распространенным типом анемий при заболеваниях ЖКТ является микроцитарная гипохромная анемия, а именно, анемия хронических заболеваний и железодефицитная анемия. Диагностика анемий включает исследование достаточно большого количества гематологических и биохимических показателей крови. В связи со сложностью диагностики анемий, а также невозможности оценки латентных форм актуальна разработка быстрых безреагентных методов оценки наличия патологического процесса. При недостаточном содержании гемоглобина в эритроцитах могут изменяться вязко-эластичные свойства клеток, что, по всей видимости, может использоваться в комплексной диагностике анемий. Цель данной работы – акустический анализ упругости эритроцитов при заболеваниях ЖКТ с наличием и отсутствием диагностированной анемии и оценка возможности использования метода в комплексной диагностике анемий.

Объектом исследования служила кровь, стабилизированная ЭДТА-К₂, плазма и суспензия эритроцитов пациентов с патологиями ЖКТ с наличием (n=38) и отсутствием (n=53) диагностированной анемии в возрасте 45±5 лет. В качестве контроля использовали кровь практически здоровых доноров сопоставимого возраста (n=17). Плазму и эритроциты получали путем центрифугирования крови в течение 15 мин. при 3000 об./мин. Характеристики упругости эритроцитов исследовали акустическим методом на приборе «Биом». Наличие анемии диагностировали с помощью ряда гематологических показателей: содержания эритроцитов (RBC), концентрации гемоглобина (Hb) в крови, гематокрита (Ht), среднего объема эритроцита (MCV), среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH), распределения эритроцитов по величине (RDV-CV).

Акустический анализ эритроцитов показал снижение упругости клеток у пациентов с патологиями ЖКТ с наличием микроцитарной гипохромной анемии (3,38±0,13) по сравнению с контролем (4,17±0,07) и группой пациентов с патологиями ЖКТ без диагностированной анемии (4,17±0,04). Гипохромную микроцитарную анемию у пациентов с патологиями ЖКТ диагностировали на основании снижения показателей RBC, Hb, MCH, MCV, Ht, а также увеличения показателя RDV-CV в крови по сравнению с нормой. Коэффициент линейной корреляции Пирсона показал наличие заметной корреляции между показателем упругости эритроцитов и содержанием гемоглобина в крови и весьма высокой корреляции между значением акустического параметра эритроцитов и содержанием гемоглобина в клетках.

Таким образом, изменения упругости эритроцитов у пациентов с патологиями ЖКТ во многом обусловлены изменениями содержания гемоглобина в клетках и, по-видимому, могут использоваться для комплексной диагностики гипохромной анемии.

АНАЛИЗ ВЫЗВАННЫХ ВАРИАБЕЛЬНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ ИЗМЕНЕНИЙ УСТОЙЧИВОСТИ ФОТОСИСТЕМ I И II ПРИ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Л. М. Сурова, О. Н. Шерстнева, В. А. Воденев, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lyubovsurova@mail.ru

Известно, что переменный потенциал (ВП), играет важную роль в формировании системного ответа растения на внешние стресс-факторы, влияя на физиологическое состояние растительного организма, в том числе на фотосинтез и транспирацию, однако, остаётся не до конца изученной конечная роль таких функциональных ответов растений. Некоторые авторы полагают, что индуцированные сигналом изменения, способствуют повышению устойчивости растений к внешним воздействиям, что, однако, остаётся мало подтвержденным экспериментально.

Эксперименты проводили на двух-, трёхнедельных растениях гороха посевного (*Pisum sativum*), выращенных в климатической камере KBW-240 гидропонным способом при 16-часовом световом дне и температуре +24°C. Регистрацию электрических сигналов осуществляли с использованием хлорсеребряных макроэлектродов и милливольтметра ИПЛ-113. Генерацию ВП вызывали ожогом (2-3 с.). Анализ параметров фотосинтеза и локальный прогрев листа осуществляли с помощью РАМ-флуориметра Dual-РАМ-100 и инфракрасного газоанализатора GFS-3000.

Ожог листа вызывал индукцию и распространение переменного потенциала, при этом в неповреждённом листе возникали изменения активности транспирации и параметров фотосинтеза.

Было исследовано влияние ВП на устойчивость фотосинтетического аппарата к высокой температуре. Генерация сигнала, предшествующая нагреванию листа до температуры +45...+47°C или более, увеличивала конечный квантовый выход ФСI и долю неповрежденной ФСI, что показывало положительное влияние ВП на устойчивость ФСI, доля неповрежденной ФСII не отличалась от контроля. Известно, что ФСI устойчивее к стресс-факторам, чем ФСII, однако ФСI практически не способна к репарации, вероятно защита ФСII недостижима при высоких внешних температурах, однако повышение устойчивости ФСI может играть важную роль в увеличении общей устойчивости растения, в частности, способствовать поддержанию циклического потока электронов и сохранению синтеза АТФ.

Принимая во внимание различия транспирации у экспериментальных (с ВП) и контрольных (без ВП) растений, можно предположить, что сигнал может изменить температуру листа при нагревании и модифицировать повреждение ФСII. Влияние сигнала на нагревание листа при одинаковой внешней температуре показало, что средняя температура листа после распространения ВП была достоверно выше, чем в контроле. Изменения транспирации и температуры листа, вызванные нагреванием, коррелируют между собой, что подтверждает ключевую роль транспирации для различных вариантов нагрева листьев экспериментальных и контрольных растений. Коэффициенты корреляции между температурой и долей неповреждённых ФСI были низкими, а для параметров ФСII после прогрева были достоверными и значительными.

Теоретические данные, полученные на основании математической модели, подтверждают, что основным механизмом увеличения повреждения ФСII высокой температурой, при предварительной индукции ВП, является подавление активации транспирации при нагреве, вызванное закрытием устьиц. Однако усиление повреждения ФСII, может играть защитную роль, снижая вероятность повреждения ФСI. Таким образом, можно полагать, что распространение ВП, приводящее к изменениям устойчивости фотосинтетического аппарата, является важным механизмом адаптации растения к изменениям условий среды.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-34-00637 мол_а.

ВЛИЯНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Е. М. Сухова, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
n.catherine@inbox.ru

Растения постоянно подвергаются действию неблагоприятных факторов окружающей среды и адаптируются к ним. Одним из механизмов такой адаптации является генерация электрических сигналов, в частности, переменного потенциала (ВП), который регулирует многие физиологические процессы, включая фотосинтез. Ранее в наших работах было показано, что при развитии ВП происходят сдвиги рН в апопласте, цитоплазме, а также в компартментах хлоропластов. Такие изменения связаны с обратимой инактивацией H^+ -АТФазы плазмалеммы и, возможно, играют значительную роль в регуляции электрическими сигналами фотосинтетических процессов. Целью настоящей работы был анализ путей влияния ВП, включая роль сдвигов рН, на фотосинтез высших растений.

Вначале нами было показано, что динамика изменений ассимиляции CO_2 и нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла могут быть описаны линейной связью с изменениями рН апопласта и цитоплазмы. Проведенный нами анализ с использованием математической модели электрической активности плазмалеммы клетки растения подтвердил эту гипотезу.

Дальнейшие наши исследования были посвящены детальному экспериментальному и теоретическому анализу механизмов влияния сдвигов рН на фотосинтетические процессы.

На основе разработанной нами модели электрогенеза высших растений была проверена гипотеза о роли изменения активности H^+ -АТФазы для регуляции проникновения CO_2 в клетку во время ВП. Было показано, что поглощение CO_2 клеткой в значительной степени зависит от начальной активности H^+ -АТФазы и величины ее инактивации. Обнаруженный эффект связан с изменением соотношения $[CO_2]:[HCO_3^-]$, изменяющимся вместе с рН апопласта.

На следующем этапе мы исследовали влияние ВП на поглощение и распределение энергии фотосинтетическим аппаратом. Было показано, что в условиях затемнения переменный потенциал индуцировал возрастание потока поглощенной и диссипированной фотосистемой II световой энергии, что, по-видимому, связано с перемещением светособирающей антенны к фотосистеме II. Кроме того, переменный потенциал вызывал обратимое увеличение потока электронов через электрон-транспортную цепь хлоропластов и возрастание нефотохимического тушения флуоресценции. Выявленные эффекты, вероятно, связаны со снижением рН стромы и люмена хлоропластов.

Таким образом, нами были предложены механизмы влияния ВП на фотосинтетические процессы, связанные с участием H^+ , регулирующих фотосинтетические процессы, главным образом нефотохимическое тушение флуоресценции. Разработка детализированной математической модели влияния ВП на световые и темновые стадии фотосинтеза является целью последующих исследований и поможет проверить предложенные гипотезы. Кроме того, перспективным направлением развития модели является описание распределения развития нефотохимического тушения в толще листа и по его поверхности в ответ на действие различных стрессоров и различных интенсивностей освещения.

Экспериментальные исследования влияния стрессовых сигналов на фотосинтетические процессы были выполнены при поддержке Российского научного фонда (Проект № 17-76-20032); разработка математических моделей регуляции фотосинтетических процессов стрессовыми сигналами осуществлялась при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Проект № 18-34-00644 мол_а).

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ПАДАЮЩЕГО СВЕТА НА РАЗВИТИЕ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ ГОРОХА ПОСЕВНОГО: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Е. М. Сухова, А. Д. Хлопков, Д. А. Ратницына, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Anbion@yandex.ru

Свет играет ключевую роль в жизни растений. Энергия света может быть конвертирована в ходе фотосинтеза в энергию химических связей, которая будет использована в дальнейших метаболических реакциях. Однако, несмотря на его важную роль, свет также может выступать и в качестве стрессора. Известно, что поглощенная фотосинтетическим аппаратом световая энергия может пойти на фотохимические реакции, а ее избыток рассеяться в виде тепла или флуоресценции или же пойти на нефотохимические реакции. В этом случае, поток рассеиваемой энергии может контролироваться только механизмами нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (q_N), включающими взаимодействие зеаксантина и протонированного PsbS белка с реакционным центром, а также перемещение светособирающей антенны между фотосистемами II и I, фотоингибирование. Отражающее фотосинтетический стресс нефотохимическое тушение представляет значительный интерес для фундаментальных и прикладных исследований; в частности, для дистанционного мониторинга растений. В связи с последним, наиболее перспективным является применение фотохимического индекса отражения (PRI), который связан с нефотохимическим тушением.

Нами был проведен экспериментальный анализ динамики нефотохимического тушения и PRI при различных уровнях освещения на листе гороха посевного. Для проведения исследований был использован флуориметр Dual-PAM-100 и спектрометр S-100. Лист гороха предварительно затемнялся в течение 10 минут. После этого проводились измерения q_N при фоновом освещении, а также при интенсивности красного актиничного света (635 нм) 131, 344, 830, 1599 мкМ/(м²с). Для каждой интенсивности q_N измерялось раз в минуту в течение 5 минут, после чего актиничный свет выключался на 2 минуты, затем включался актиничный свет с большей интенсивностью. Для регистрации PRI лист дополнительно подсвечивали галогенной лампой в течение 25 секунд каждую минуту. Было показано, что с усилением интенсивности актиничного света максимальное значение q_N увеличивалось, и его релаксация замедлялась. Также было обнаружено, что при выключении актиничного света значения нефотохимического тушения возвращались практически к стационарному уровню. Величина PRI снижалась с увеличением интенсивности освещения; после выключения света наблюдалась релаксация его к начальному уровню. Между величинами PRI и NPQ наблюдалась сильная отрицательная корреляция.

Далее мы фитировали полученные динамики изменения q_N при различном освещении, используя предложенное нами кинетическое описание развития нефотохимического тушения и его релаксации. Экспериментальные и модельные кривые хорошо соответствовали друг другу ($R^2=0,83$). Рассчитанные кривые показывали увеличение q_N при включении света и возврат к стационарному состоянию при выключении света, однако не могли описать динамику переходов нефотохимического тушения. В дальнейшем работа будет направлена на усовершенствование модели с целью описания динамики переходных процессов нефотохимического тушения при изменении освещения.

Экспериментальные исследования были выполнены при поддержке Российского научного фонда (Проект № 17-76-20032), анализ математической модели был выполнен при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Проект № 18-34-00644 мол_а).

ФАУНА ЭНТОМОФАГОВ В НАСАЖДЕНИЯХ *BETULA PENDULA*

М. В. Сухорукова, Н. В. Турмухаметова

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина 1;
marina.sukhorukova.1994@mail.ru

Целью работы является описание разнообразия энтомофагов березовых насаждений Республики Марий Эл. Исследование по изучению фауны энтомофагов было проведено в 2015 г. на территории трех районов: Юринского, Звениговского и Медведевского. Материал собирали с виргинильных (v) и средневозрастных генеративных (g2) особей *Betula pendula*. Отлов насекомых осуществляли стандартными методами: стряхивание, кошение энтомологическим сачком, использование стволовых и почвенных ловушек в пристволовой части дерева. При визуальном осмотре нижней части кроны деревьев и стволов осуществляли захват отдельных насекомых.

В результате исследования был обнаружен 131 вид Insecta из 54 семейств и 9 отрядов. Зоофагами являются 48 видов с доминированием отряда Coleoptera (71%): Coccinellidae, Cantharidae, Geotrupidae, Carabidae, Silphidae, Cleridae. Среди энтомофагов преобладают представители семейства Carabidae (19 видов): *Pterostichus niger*, *Carabus arvensis*, *Calathus melanocephalus* и др. Coccinellidae составляют 8 видов, например, *Coccinella quatuordecimguttata*, *Thea viginticluopunctata*. Семейство Silphidae представлено 3 видами, а Cantharidae, Geotrupidae и Cleridae – 1 видом каждое. Отряды Hemiptera, Neuroptera, Raphidioptera, Hymenoptera, Diptera существенно беднее и представлены всего лишь 14 видами. Это, например, *Anthocoris nemorum*, *Chrysoperla carnea*, *Raphidia ophiopsis*, *Ephialtes manifestator*. Среди группы фитофагов (69 видов) преобладает отряд Coleoptera (54%). Самое многочисленное семейство Curculionidae составляют 12 видов. Например, *Phyllobius arborator*, *Tanimecus palliatus* и др. Насекомыми со смешанным питанием (14 видов) являются *Formica truncorum*, *Palomena prasina*, *Chrysops relictus* и др.

Видовое разнообразие и относительное обилие Insecta в насаждениях березы повислой изученных районов отличается, что определяется различиями условий местообитаний; индекс Чекановского-Сьеренсена составляет (0,25–0,36). Состав энтомофауны разновозрастных насаждений *Betula pendula* в пределах одного биотопа более сходен (индекс 0,44–0,60). Обилие по шкале Ю. А. Песенко (1982) у большей части энтомофагов оказалось невысоким (1–3 балла). Многочисленно были встречены только некоторые виды семейства Carabidae, например, *Pterostichus niger*, *Poecilus cupreus*. Массовых видов обнаружено не было.

За период наблюдений на территории Юринского и Звениговского районов было обнаружено 1237 особей Carabidae. Наибольшая динамическая плотность (933,4 экз./100 лов.-сут.) была зафиксирована в Юринском районе (участок № 1, g2 деревья), а наименьшая – в п. Суслонгер (участок № 2). Здесь уловистость составляла всего 58,5 экз./100 лов.-сут. с доминированием рода *Pterostichus*. На участке № 1 (v деревья) динамическая плотность была 616,2 экз./100 лов.-сут. с незначительными различиями уловистости в разные сроки сбора. Было выявлено, что уловистость жужелиц в разные сроки выемки зависит от абиотических факторов. При достаточном увлажнении и более низких температурах динамическая плотность была выше, так как, именно, такие условия увеличивают активность подавляющего числа видов жужелиц и являются благоприятными для размножения.

Преобладающими среди зоофагов по системе И. Х. Шаровой (1981) оказались эпигеобионты ходячие (21,1%), поверхносто-подстилочные (15,8%) и подстильно-почвенные (21,1%) жизненные формы, а среди миксофитофагов – геохортобионты гарпалоидные (21,1%).

Таким образом, нами был описан видовой состав энтомофагов березовых насаждений Республики Марий Эл. Из общего списка (131 вид) 48 насекомых являются зоофагами с доминированием семейства Carabidae (19 видов). Наибольшая уловистость жужелиц (933,4 экз./100 лов.-сут.) была отмечена в Юринском районе (g2 деревья).

ВЛИЯНИЕ ТРИКЛОЗАНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧНИ ОЗЕРНОЙ ЛЯГУШКИ

К. С. Теньков¹, В. С. Старинец¹, М. В. Дубинин¹, В. Н. Самарцев¹, А. Е. Степанова¹, А. О. Свинин¹, К. Н. Белослудцев^{1,2}

¹Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
kirill.tenkove@gmail.com

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино
Московской области, ул. Институтская, 3

Триклозан (5-хлор-2-(2,4-дихлорфенокси) фенол) является противомикробным препаратом широкого спектра действия, который содержится в большом количестве товаров бытового назначения. Недавно нами показано, что триклозан способен индуцировать полиморфные фазовые переходы в мембране лецитиновых липосом и внутренней мембране митохондрий и, тем самым, нарушать упаковку мембраны и приводит к ее пермеабилзации. Индукция пермеабилзации митохондрий достаточно хорошо может объяснить известное проапоптотическое действие этих агентов, поскольку в этом случае, как показано нами, происходит митохондриальное набухание и выброс проапоптотического белка цитохрома *c* из органелл.

Учитывая широкое применение триклозана в средствах личной гигиены, неудивительна тенденция к аккумуляции этого агента в водных экосистемах и иловых отложениях, где он сохраняется в течение длительного периода времени. Вследствие известной способности триклозана и метилтриклозана аккумулироваться в тканях организмов, обитающих в водоемах, нами изучено влияние триклозана на проницаемость мембран и активность мембранных систем митохондрий озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*). Показано, что триклозан дозо-зависимо (5–60 мкМ) индуцировал набухание митохондрий печени лягушек. Набухание наблюдалось как в присутствии, так и в отсутствии субстратов окисления и было нечувствительно к ингибитору митохондриальной поры циклоспорину А. Предполагается, что в основе этих эффектов триклозана также лежит образование липидных пор. Кроме того, нами установлено, что триклозан уже в концентрации 10 мкМ значительно подавлял работу комплексов дыхательной цепи митохондрий печени лягушек.

Таким образом, нами предположено, что триклозан может оказывать существенное влияние на проницаемость мембран и активность мембранных систем организмов, обитающих в водной среде.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 17.4999.2017/8.9 и № 6.5170.2017/8.9), а также при поддержке РФФИ и Московской области (17-44-500584).

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЛИШАЙНИКОВ СЕМЕЙСТВА ПАРМЕЛИЕВЫЕ (PARMELIACEAE) В ОКРЕСТНОСТЯХ ООПТ «РУБСКОЕ ОЗЕРО» ИВАНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Е. А. Терентьева, Л. Ю. Минеева

Ивановский государственный университет, 153025, Иваново, ул. Ермака, 39;
terentjevaekaterina@yandex.ru

Лишайники являются одними из главных индикаторов состояния окружающей среды. Они распространены повсеместно по всему Земному шару и имеют чрезвычайно высокое видовое разнообразие. Они входят во многие природные сообщества и являются их неотъемлемым компонентом. По сравнению с другими организмами, собственная изменчивость лишайников незначительна и крайне замедлена, при этом они очень ярко реагируют на изменения окружающей среды (изменение состава воздуха, состава субстрата). Все это делает лишайники важным объектом изучения.

Поскольку Рубское озеро и прилегающие к нему территории являются особо охраняемой природной территорией регионального значения, здесь очень важно изучать биологическое разнообразие организмов, в том числе и лишайников.

Видовой состав лишайников Ивановской области исследовался на протяжении нескольких лет Н. В. Малышевой. Данные ее исследований являются самым полным описанием лишайников Ивановской области. Также на протяжении многих лет изучение лишайников проводилось преподавателями и студентами ИвГУ. В статье «Видовое разнообразие и экологические особенности видов лишайников в окрестностях Рубского озера (Тейковский район, Ивановская область)» Л. Ю. Минеевой и И. Б. Хитерман проведено обобщение данных, полученных в ходе многолетних исследований лишайников окрестностей Рубского озера. Установлено, что видовой состав лишайников насчитывает 39 видов, относящихся к 10 семействам и 19 родам. Из них к семейству Parmeliaceae относится 9 видов.

Сбор материала происходил в июне-июле 2013–2017 гг. маршрутным методом. Для сбора применялся острый нож для снятия лишайника с древесного субстрата. Каждый образец помещался в отдельный пакет, и сразу же этикетировался. Определение лишайников проводилось в лаборатории с использованием определителей.

В результате исследования было найдено 13 видов лишайников семейства Parmeliaceae. На основании анализа систематического списка лишайников было установлено соотношение между родами собранных лишайников. Преобладающим в лишайниковой биоте является род *Parmelia*, который составляет 31%. Далее идут роды *Evernia* (23%), *Hipogimnia* и *Usnea* (по 15% каждый). Самыми малочисленными являются род *Parmeliopsis* и род *Cetraria* (по 8%).

По типу слоевища преобладающим типом является листоватый (62%), кустистый тип составляет 38%. Далее мы классифицировали лишайники по приуроченности к субстрату, в результате этого были получены следующие данные: доминирующими среди видов семейства являются эпифиты (62%). Чуть меньше приходится на виды, которые являются эпифитными/эпиксильными (23%). Малочисленными являются эпиксильные, которые составляют всего 15%.

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИХ, ОКСИДАНТНЫХ И АГРЕГАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ В ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЙ ПЕРИОД

Н. А. Титова¹, С. А. Васенин², Е. Н. Рябова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
titova@neuro.nnov.ru

²Приволжский окружной медицинский центр Федерального медико-биологического агентства России, 603001, Нижний Новгород, Нижневолжская набережная, 2

К настоящему времени одной из актуальных задач биомедицины представляется поиск диагностических критериев, которые давали бы точную картину течения посттрансплантационных изменений у пациентов, перенесших трансплантацию органов. Несмотря на объемные данные, к примеру, по иммунным механизмам, в клинической практике остается малоизученными реологические, оксидантные и антиоксидантные свойства крови, являющиеся в большей мере отражением течения посттрансплантационных изменений.

В работе проводилось исследование больных, которым была произведена трансплантация органов (печень или почка) и здоровые доноры. Исследовали динамику изменения электрофоретической подвижности (ЭФПЭ), малонового диальдегида (МДА), каталазы и агрегативных свойства эритроцитов больных. Установка для определения ЭФПЭ состояла из горизонтальной микрокамеры, микроскопа, источника постоянного тока. Фиксировали перемещение 10 клеток в двух направлениях, изменяя знак заряда на электродах полярным переключателем. Интенсивность перекисного окисления липидов определяли по методу, основанному на способности молекулы МДА в кислой среде при температуре +90...+100°C реагировать с двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты (ТБК) с образованием окрашенного триметинового комплекса. Антиоксидантные свойства определяли по способности каталазы разлагать перекись водорода с образованием воды и кислорода. Активность энзима определяют по снижению пероксида в пробе. Весь комплекс поверхностных явлений, происходящих на мембране, определяет агрегационную устойчивость крови. Показатель агрегации эритроцитов исследовали методом подсчета одиночных эритроцитов и их агрегатов в камере Горяева.

В серии экспериментов были проанализированы данные, полученные от пяти человек, перенесших операцию по трансплантации органов и два человека – здоровых доноров. Временная динамика была следующей: через 1 день после операции, через 7 дней и через месяц после операции. Статистическая обработка полученных результатов показала, что при трансплантации на 7 сутки наблюдается снижение ЭФПЭ и повышение агрегации при сохранении концентрации МДА и активности каталазы относительно показателей до операции, тогда как к 30 суткам регистрируется тенденция к увеличению ЭФПЭ при уменьшении других исследуемых показателей. Можно предположить, что на начальном этапе наблюдается ухудшение реологических характеристик крови, что связано с понижением электрокинетических показателей эритроцитов и повышение агрегации, к 30 суткам наблюдается улучшение реологических показателей на фоне уменьшения окислительных процессов в эритроцитах. Дальнейшая работа предполагает сбор экспериментального материала для исследования отдаленных последствий посттрансплантационных изменений.

ДРОЖЖИ *YARROWIA LIPOLYTICA*, СЕКРЕТИРУЮЩИЕ БАКТЕРИАЛЬНУЮ ФИТАЗУ

Д. С. Трошагина, А. Д. Сулейманова, М. Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
dashunka_@mail.ru

В настоящее время органические соединения мио-инозитол фосфаты привлекают внимание биотехнологов с целью применения их в медицине. Доказана роль отдельных мио-инозитол фосфатов в защите от осложнений диабета, хронических воспалений и сердечно-сосудистых заболеваний, обнаружены противоопухолевые свойства. Однако, получают эти соединения лишь химическим путем, тогда как альтернативная экономически выгодная технология их ферментативного получения не развита. Использование фитат-гидролизующих ферментов (фитаз) может внести свой вклад в получение инозитол фосфатов. Генерация данных соединений в промышленных масштабах возможна с помощью эффективных систем экспрессии фитаз. Для продукции рекомбинантных белков на протяжении нескольких лет находят применение дрожжи *Yarrowia lipolytica*, характеризующиеся высоким выходом продукта, меньшей степенью их гликозилирования продуктов и неприхотливостью к условиям культивирования. Целью работы явилось клонирование и экспрессия гена бактериальной фитазы *Pantoea* sp. 3.5.1 в дрожжах *Y. lipolytica*.

В работе использовали последовательность гена гистидиновой кислотной фитазы *Pantoea* sp. 3.5.1 – *agpP* (AN KJ783401.1), из которой исключали последовательность собственного сигнального пептида, а к структурной области гена добавляли С-терминальный His-таг. Для корректной экспрессии в дрожжах проводили кодон-оптимизацию гена (*agpP-opt*). Однако оптимизация кодонов не всегда повышает уровень экспрессии гетерологичного белка. Поэтому в работе так же использовали нативную последовательность гена фитазы *Pantoea* sp. 3.5.1 (*agpP*). Секреция гетерологичного белка зависит от эффективности сигнального пептида и для изучения и оптимизации секреции бактериальной фитазы дрожжами использовали также полную последовательность гена без исключения нативного сигнального пептида (*agpP-opt+bacSP*). В работе использовали интегративный дрожжевой вектор pINA1296, содержащий сильный гибридный промотор hr4d и последовательность сигнального пептида гена щелочной протеазы XPR2, позволяющую осуществлять секрецию гетерологичного белка. В качестве селективного маркера вектор содержит активный ген биосинтеза лейцина LEU2, отсутствующий в геноме дрожжей и позволяющий клеткам расти на среде без лейцина. Получены рекомбинантные штаммы *Y. lipolytica*, в геном которых интегрирован ген бактериальной фитазы *agpP* (оптимизированный и нативный). Вестерн-блоттинг и анализ фитазной активности показали, что бактериальная фитаза экспрессируется и секретируется в культуральную жидкость рекомбинантными дрожжами. Для штаммов дрожжей с интегрированным оптимизированным геном фитазы экспрессия обнаруживалась уже на 3 сутки роста дрожжей и сохранялась до 7 суток. В культуральной жидкости штамма *Y. lipolytica* pINA1296-*agpP5* с нативным геном бактериальной фитазы экспрессия обнаруживалась лишь на 5 день культивирования. Проводили изучение динамики накопления фитазной активности в культуральной жидкости рекомбинантных дрожжей на богатой среде YPD и промышленной полусинтетической среде PPB. Максимальной фитазной активностью обладал штамм *Y. lipolytica* pINA1296-*agpP-opt3*, в геном которого интегрирован ген бактериальной фитазы под контролем гибридного промотора hr4d и дрожжевого сигнального пептида гена щелочной протеазы XPR2: на 7 сутки культивирования на среде YPD активность достигала 0,23 Ед/мл, на среде PPB – 0,17 Ед/мл.

Таким образом, уровень активности рекомбинантного штамма *Y. lipolytica* pINA1296-*agpP-opt3* на промышленной полусинтетической среде PPB существенно не отличался от активности на богатой среде YPD, что позволит в дальнейшем использовать штамм для масштабирования и культивирования в условиях производства.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-60191.

АНАЛИЗ РОЛИ ПЕРОКСИДАЗ В БИОСИНТЕЗЕ ЛИГНИНА *IN SILICO*

А. С. Тугбаева, А. А. Ермошин

Уральский федеральный университет, 620000, Екатеринбург, пр. Ленина, 51;
anastasia.tugbaeva@gmail.com

Лигнин является одним из компонентов вторичной клеточной стенки, обеспечивая ее ригидность и гидрофобность. Биосинтез предшественников монолигнолов идет по фенолпропаноидному пути. В полимеризации монолигнолов до лигнина задействованы пероксидазы и лакказы. Показано, что содержание лигнина меняется в растении при действии биотических стрессоров.

Высшие растения содержат пероксидазы I и III классов, которые отличаются по структуре, функциям и локализации в растительной клетке. Кроме процессов лигнификации, пероксидазы вовлечены в синтез суберина, фитоалексинов, метаболизме активных форм кислорода. Описаны растительные пероксидазы, которые имеют высокое сродство к окислению кониферилового спирта (CWPO-A из *Populus alba*, HRP-C из *Armoracia rusticana*, AtPrx53 из *Arabidopsis thaliana*), либо синапилового спирта (CWPO-C из *Populus alba*, ZePrx34.70 из *Zinnia elegans*). Цель работы – предположить роль некоторых пероксидаз из *A. thaliana*, используя биоинформатический анализ, для последующего клонирования и экспрессии в гетерологичном окружении.

Сравнивали белковые последовательности пероксидаз арабидопсиса с ферментами с известными функциями из растений разных видов, размещенные в базе данных GenBank NCBI. Множественное выравнивание белковых последовательностей проводили с использованием алгоритма ClustalW в программе MEGA 7. Анализ включал в себя 25 аминокислотных последовательностей. Выявлены высоко консервативные участки, характерные для S- и G- пероксидаз, а также структурные мотивы, которые присутствуют в S-пероксидазах и отсутствуют в G- пероксидазах. На основании выравнивания, с помощью метода Neighbour-joining и Maximum Likelihood с бутстрэпом 1000 реплик, было построено филогенетическое дерево. Выявлено, что AtPrx2 с неизвестными функциями и AtPrx53 из *Arabidopsis* sp. имеют высокую степень гомологии с HRP A2A из *A. rusticana*, которая характеризуется сродством к полимеризации G-монолигнолов. Следующий подкластер образует AtPrx37, имеющая высокую степень гомологии с G- пероксидазой HRP C из *A. rusticana*. Отдельный кластер на филогенетическом дереве образуют изученные S-пероксидазы ZePrx34.70 из *Z. elegans* и ее изоформы, которые имеют высокую степень гомологии с AtPrx4 и AtPrx52.

Взаимодействие AtPrx2 с другими белками были проанализированы с использованием базы данных STRING (<https://string-db.org>). Было обнаружено 9 взаимодействий с белками (AtPrx44, AtPrx7, AtPrx35, RHS13, RHS19, PRP3, XTH14, MOP10, AGP3) с оценкой 0,864-0,803. Данные белки вовлечены в процессы биосинтеза клеточной стенки. Для AtPrx37 было показано взаимодействие с 9 белками (CYP84A4, CAD9, ATCAD4, ELI3-2, CAD5, UGT72E3, OMT1, CYP84A1, ELI3-1), которые катализируют синтез лигнина в фенолпропаноидном пути с оценкой 0,913-0,900.

С использованием базы данных BAR (<http://www.bar.utoronto.ca>) показано, что экспрессия гена *AtPRX2* относительно *ACT12* снижается при действии осмотического и увеличивается при окислительном стрессе. Данные об изменении экспрессии при биотическом стрессе отсутствуют. Относительная экспрессия гена *AtPRX37* увеличивается при осмотическом и окислительном стрессе, меняется незначительно в ответ на засоление. Абсолютная экспрессия гена *AtPRX37* возрастает при заражении *Botrytis cinerea*, резко возрастает и потом снижается при воздействии *Phytophthora infestans*.

На основании полученных данных о роли пероксидаз в полимеризации лигнина и экспрессии в ответ на стрессоры для клонирования выбраны гены *AtPRX2* и *AtPRX37*.

СОЗДАНИЕ ВИРУСНОГО КОНСТРУКТА, ОБЕСПЕЧИВАЮЩЕГО ЭКСПРЕССИЮ И ДОСТАВКУ ГЕНА GDNF

В. Д. Турубанова, М. С. Гавриш, Е. А. Епифанова, А. А. Бабаев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vikaturu@mail.ru

С глиальным нейротрофическим фактором (GDNF) связывают перспективы лечения неврологических расстройств, так как его применение способствует спраутингу поврежденных нейронов. Для доставки гена GDNF в клетки головного мозга в настоящее время используются аденоассоциированные вирусные векторы (AAV), основным преимуществом которых является способность инфицировать как делящиеся, так и неделящиеся клетки.

Целью работы явилось получение вирусного конструкта, содержащего в себе гены GDNF. Разработана стратегия создания плазмидного вектора pAAV-Syn-GDNF-kid2 под управлением синапсного промотера, позволяющего экспрессировать ген интереса в нейрональных клетках. Была выбрана нуклеотидная последовательность гена GDNF наиболее часто встречающейся изоформы. Далее была подобрана система праймеров, необходимых для амплификации гена GDNF, и произведена наработка нуклеотидной последовательности GDNF с использованием Phusion полимеразы методом PCR. Полученная последовательность GDNF отчищена, подверглась рестрикции и затем лигированию с плазмидой AVV-Syn-kid2. Трансформировали лигазной смесью компетентные клетки *E. coli* с последующим клонированием. Полученную рекомбинантную плазмиду проверяли методом PCR на наличие гена GDNF.

Дальнейшая упаковка рекомбинантного аденоассоциированного вектора будет производиться в культурах HEK 293 FT при помощи вспомогательных плазмид – DJ vector и pHelper, несущих гены Rep и Cap, которые удалены из самого вирусного вектора, но обеспечивают его правильную сборку.

РОЛЬ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГОЛОВНОГО МОЗГА В АДАПТАЦИИ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL6 К ПОВРЕЖДАЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ ГИПОКСИИ *IN VIVO*

М. Д. Уразов¹, Т. А. Астраханова¹, А. В. Усенко¹, Т. А. Мищенко^{1, 2}, М. В. Ведунова¹,
Е. В. Митрошина^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Urazov@neuro.nnov.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Гипоксия представляет собой патологическое состояние, характеризующимся пониженным содержанием кислорода в тканях, являющееся одним из важнейших патогенетических факторов различных заболеваний, таких, как ишемия головного мозга, черепно-мозговая травма и т.д. Известно, что нейротрофический фактор головного мозга BDNF способствует сохранению жизнеспособности клеток головного мозга при воздействии различных стресс-факторов, в том числе гипоксии. Таким образом, применение BDNF можно расценивать как потенциальную терапию при различных патологических состояниях ЦНС. Известно, что животные даже в пределах одной линии могут обладать разными адаптационными возможностями к действию повреждающих факторов. Целью работы явилось исследование роли BDNF в реализации адаптационных ресурсов мышей линии C57Bl6 при моделировании острой гипобарической гипоксии *in vivo*.

В исследовании были использованы 85 самцов мышей линии C57BL, массой 20–25 г. Для моделирования острой гипобарической гипоксии мышей помещали в барокамеру, в которой создавали давление 220–240 мм рт. ст., что соответствует высоте 10000 м над уровнем моря. Подъем на «высоту» длился 1 мин. В процессе моделирования гипоксии регистрировались следующие параметры: время жизни на «высоте» (период от момента подъема на высоту до наступления смерти животного или остановки дыхания); время потери позы (период от момента начала подъема на высоту до момента, когда животное утрачивает способность поддерживать позу). Параметр время жизни на «высоте» использовался для разделения экспериментальных животных на группы по степени резистентности к гипоксии: 1) низкоустойчивые (время жизни на «высоте» составляет менее 3 мин.); 2) среднеустойчивые (время жизни – от 3 до 8 мин.); 3) высокоустойчивые (время жизни – более 8 мин.).

По результатам эксперимента по параметру время жизни на «высоте» количество низкоустойчивых животных составило 23,53%, среднеустойчивых – 60%, высокоустойчивых – 14,12%. Общее число выживших животных составило 25,88%. Было проведено определение параметров дыхания митохондрий мозга по оценке скорости поглощения ими кислорода. Скорость потребления кислорода митохондриями регистрировали при помощи респирометра высокого разрешения OxuGraph-2k (Oroboros, Австрия). Было выяснено, что базальная скорость потребления кислорода, при окислении субстратов глутамата и малата, в группах высокоустойчивых и среднеустойчивых животных достоверно увеличивается по сравнению с группой низкоустойчивых животных в 1,4 и 1,1 раза соответственно, и составляет $3906,136 \pm 189,37$ пмоль/(с·мл) и $3143,281 \pm 169,64$ пмоль/(с·мл), 1 мг белка. С помощью иммуноферментного анализа проведено определение содержания BDNF в тканях мозга животных после моделирования ОГБГ.

Таким образом, нами показано, что механизмы адаптации организма, формирующиеся в процессе гипоксии, могут быть связаны с усилением процесса окислительного фосфорилирования.

Работа выполнена при поддержке фонда РФФИ (гранты № 18-015-00391 А, № 17-04-01128 А, № 16-04-00245А), гранта Президента РФ МД-2634.2017.4, а также при поддержке государственного задания (проекты 17.3335.2017/4.6 и 6.6379.2017/8.9).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГОЛОВНОГО МОЗГА И БЛОКАДЫ ТИРОЗИНКИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА В-ТИПА НА ПЕРВИЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ГИППОКАМПА В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

А. В. Усенко¹, Т. А. Мищенко^{1, 2}, Е. В. Митрошина^{1, 2}, М. В. Ведунова¹

¹Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603950, просп. Гагарина, 23;
sas7342415@mail.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, 603005,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

Головной мозг чрезвычайно чувствителен к гипоксическому воздействию по причине высокой интенсивности потребления кислорода, который является необходимым звеном для запасания гликогена в ходе утилизации глюкозы. Нарушение поступления кислорода приводит к разрушению нейронных сетей головного мозга и гибели клеток. Поэтому, становится актуальным вопрос о поиске веществ, которые смогут не только защитить нервные клетки от повреждающих воздействий, но и восстановить функционирование ЦНС после перенесенного стресса. Целью исследования является изучение роли тирозинкиназного рецептора В-типа (TrkB) в реализации нейротропного и нейропротекторного действия нейротрофического фактора головного мозга (BDNF).

Объектом исследований служили первичные культуры клеток гиппокампа, полученные от 18-дневных эмбрионов мыши линии C57BL/6. Острую нормобарическую гипоксию моделировали на 21-й культивирования путем замены кондиционной среды на среду с низким содержанием кислорода на 10 минут. Добавление нейротрофического фактора головного мозга и селективного блокатора рецептора TrkB (ANA-12) в концентрациях 1 нг/мл и 1 мкМ/мл соответственно производилось ежедневно, начиная с 3 дня развития клеточных культур клеток гиппокампа.

При исследовании жизнеспособности культур, было показано, что кратковременная острая кислородная недостаточность оказывает необратимое разрушающее воздействие на первичные гиппокампальные культуры. Установлено достоверное увеличение количества мертвых клеток по сравнению с группой культур, которая не подвергалась гипоксическому воздействию. Ежедневное экзогенное применение BDNF, начиная с 3 дня развития культур *in vitro*, способствовало сохранению жизнеспособности клеток в культуре в отдаленном постгипоксическом периоде. На третьи сутки после воздействия количество мертвых клеток в группе «BDNF» было в 1,4 раза ниже, чем в группе «Гипоксия». Применение селективного блокатора рецептора TrkB - ANA12 как в сочетании с нейротрофическим фактором BDNF, так и как самостоятельное вещество достоверно повышает процент мертвых клеток относительно группы «Гипоксия» в 3 и 3,5 раза соответственно.

Хроническое добавление BDNF и ANA12 приводит к модуляции спонтанной биоэлектрической активности нейронных сетей первичных культур клеток гиппокампа путем изменения внутренней функциональной структуры сети. Выявленные эффекты имеют разнонаправленный характер. Блокада TrkB-рецепторов в течение развития первичных культур клеток гиппокампа приводит к существенным изменениям в структуре сетевого ответа. Отмечалось повышение количества спайков, формирующих сетевую пачку импульсов, и изменение профиля сетевых пачек на поздних стадиях развития культур.

Таким образом, предполагается, что ключевой сигнальный механизм, связанный с нейропротекторным и антигипоксическим действием нейротрофического фактора BDNF, опосредован взаимодействием нейротрофина с тирозинкиназным рецептором В-типа.

Работа поддержана РФФИ (проект № 17-04-01128).

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ПРОТИВ МУЦИНА 1 НА ЭКСПРЕССИЮ ICAM-1 ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

С. В. Утукова, П. И. Васильчиков

Научно-исследовательский центр молекулярной биологии и биомедицины Университета Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д; *sveta.utukova@mail.ru*

Муцин 1 (MUC1) это полифункциональный гликопротеин с большим структурным разнообразием, принимающий участие в разных внутриклеточных процессах. MUC1 обладает способностью регулировать транскрипцию генов кодирующих провоспалительные белки путем формирования комплекса с NFκB. ICAM-1 – мембранный гликопротеин, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов. Повышенная экспрессия ICAM-1 наблюдается при заболеваниях, связанных с воспалением, в том числе при онкологических. Показано, экспрессия ICAM-1 регулируется NFκB. Целью работы явилось исследование действия блокаторов на экспрессию ICAM-1 клетками рака молочной железы (MCF-7) и аденокарциномы толстой кишки (Colo-205).

В работе использовали клеточные линии MCF-7 и Colo-205, предоставленные РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Блокирование MUC1 проводили мышинными моноклональными антителами против MUC1 (ИКО-25) и двумя рекомбинантными белками: мини-антитела против MUC1 (scFv anti MUC1) и рекомбинантного белка, представляющего собой мини-антитело, слитое с 112–175 а. к. ротавирусного энтеротоксина NSP4 (scFv-NSP4). Инкубировали клеточные линии с антителами при +37°C в течении 24 ч. По окончании эксперимента выделяли нуклеиновые кислоты из обработанных опухолевых клеток смесью фенола с хлороформом. Геномную ДНК элиминировали с помощью обработки ДНКазой I и синтезировали кДНК методом ОТ-ПЦР с использованием гексапраймеров. Экспрессию мРНК гена ICAM-1 детектировали методом ПЦР в режиме реального времени относительно мРНК генов домашнего хозяйства: убиквитина С, тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы, активационный протеина ζ и β-2-микроглобулина. Уровни мРНК ICAM-1 определяли методом ΔΔCt с учетом эффективности реакции. Анализ полученных результатов проводили с использованием программ: «REST 2009 1.0» «GraphPad Prism 5.0».

Связывание MUC1 моноклональными антителами ИКО-25 на поверхности клеток линии MCF-7 приводило к незначительному снижению уровня мРНК ICAM-1, в то время как под действием рекомбинантных белков scFv и scFv-NSP4 экспрессия мРНК гена ICAM-1 повышалась по сравнению с контролем в 1,7 и 2 раза, соответственно. Воздействие ИКО-25, scFv и scFv-NSP4 на клетки линии Colo-205 приводило к повышению уровня мРНК ICAM-1 3, 2,5 и 1,2 раза соответственно. Ранее сообщалось, что белки против Муцина 1 вызывают интернализацию данной молекулы. По-видимому, действие scFv и scFvNSP4 на линию клеток MCF-7 вызывает интернализацию MUC1, что приводит к активации NFκB – регулятора экспрессии ICAM-1.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОКОНТЕЙНЕРОВ НА ОСНОВЕ ГАЛЛУАЗИТА И КУРКУМИНА НА ОРГАНИЗМ НЕМАТОД *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Г. И. Фахруллина, Э. И. Гаязова, Л. Р. Нигаматзянова, Р. Ф. Фахруллин

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420000, Казань, ул. Кремлевская, 18;
lyaysan.nigamatzyanova@gmail.com

В настоящее время все большее число бактерий приобретают устойчивость к антибиотикам. В связи с этим осуществляется поиск новых способов лечения бактериальных инфекций. Куркумин – полифенол природного происхождения, обладающее антибактериальным, антиоксидантным, антираковым свойствами. Однако фармакологическое применение куркумина ограничено его гидрофобностью и низкой биодоступностью.

Для облегчения доставки куркумина проведена его инкапсуляция в нанотрубки галлуазита методом вакуумной загрузки. Нанотрубки, заполненные куркумином, были модифицированы декстрином для формирования ферментно-деградируемых заглушек. Термогравиметрический анализ выявил, что эффективность загрузки куркумина в нанотрубки галлуазита составила 9,93% по массе. Микрофотографии, полученные с помощью электронной микроскопии, показали, что галлуазит сохранил свое первоначальное трубчатое строение после инкапсуляции лекарства и просветы нанотрубок, были заполнены куркумином. Противомикробное действие нанотрубок галлуазита, загруженных куркумином и покрытых декстрином (наноконтейнеры) в отношении бактерии *Serratia marcescens* ATCC 9986 изучали в системе хозяин-микробиота с использованием почвенных нематод *Caenorhabditis elegans*. Было установлено значительное уменьшение кишечной колонизации нематод бактериями *S. marcescens* в присутствии наноконтейнеров (1830 ± 53 КОЕ/нематода) по сравнению с контролем (3280 ± 156 КОЕ/нематода). При инкубации с наноконтейнерами в течение 72 часов бактерии *S. marcescens* были неспособны продуцировать токсичный пигмент продигиозин в кишечнике *C. elegans*. Кроме того, галлуазит, заполненный куркумином и покрытый декстрином, увеличил продолжительность жизни нематод, инфицированных *S. marcescens* в 2 раза.

Таким образом, нанотрубки галлуазита, заполненные куркумином, потенциально могут стать эффективным антимикробным препаратом.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров и при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-04-02182).

СУБДИФРАКЦИОННЫЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ АКТИНА И ТУБУЛИНА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ И ТКАНЯХ НА ОСНОВЕ НОВОГО КЛАССА ФЛУОРОГЕННЫХ КРАСИТЕЛЕЙ SiR-ACTIN И SiR-TUBULIN

О. Е. Фурман¹, Н. И. Игнатова¹, М. М. Перфилов², Н. В. Клементьева¹

¹Нижегородская государственная медицинская академия, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

На сегодняшний день интересной задачей представляется переход от микроскопии отдельных клеток *in vitro* к визуализации цитоскелета на тканевом уровне. Ключевыми критериями для визуализации цитоскелета в толстых тканевых образцах по методу высокоразрешающей локализационной микроскопии являются такие характеристики красителя как: высокое соотношение сигнал/шум и четкое мечение целевых структур без неспецифического связывания. Подходящим инструментом выступил новый класс флуорогенных красителей – SiR-actin и SiR-tubulin. Цель работы – разработать методику получения субдифракционных изображений актина и тубулина в опухолевых клетках и тканях с использованием флуорогенных красителей SiR-actin и SiR-tubulin.

Работы проводились на клеточной линии LLC (карцинома легкого Льюис). В качестве модельных животных выступали мыши линии C57BL/6. В работе использовались флуорогенные красители SiR-actin и SiR-tubulin. В работе применялись следующие методы: приготовление имиджинговых STORM буферов, подготовка криосрезов опухолевой ткани и локализационная микроскопия единичных молекул. Анализ полученных данных проводили с использованием пакетов программ μ Manager и Fiji, дополненным плагином ThunderSTORM для анализа локализаций одиночных флуорофоров.

На первом этапе работы была исследована возможность применения нового класса флуорогенных красителей силикон-родаминовой природы SiR-actin и SiR-tubulin в режиме локализационной микроскопии одиночных молекул. Были подобраны подходящие режимы микроскопической съемки, позволяющие детектировать обратимые переходы флуорофора между флуоресцентным и темновым состоянием. Были подобраны оптимальные условия микроскопической съемки живых клеток для красителя SiR-actin интенсивность мощности 3 Вт/см² и время экспозиции 16–50 мс, а также для красителя SiR-tubulin интенсивность мощности 60 Вт/см², экспозиция – 50 мс.

Следующим шагом стало создание первичной опухолевой модели на животных. Опухоли были получены на линейных мышах C57BL/6 путем подкожного введения клеток LLC (мышинной карциномы легких Льюис) в область бедра. После роста в течение 2–2,5 недель, опухоль вырезали и готовили криосрезы. В случае с использованием SiR-actin в методе локализационной микроскопии одиночных молекул детектировалась разветвленная сеть актиновых волокон, морфологически сходных со стресс-фибриллами, наблюдаемыми в культуре клеток, а также сопоставимой с ними по толщине.

При работе с красителем SiR-tubulin на опухолевых срезах было показано, что тубулин обнаруживается в виде гранул, что значительно отличается от его морфологии в клеточной культуре. При различных методах фиксации волокна тубулина так же не детектировались. Возможно данный эффект связан с тем, что высокодинамичная сеть микротрубочек подвергается разборке в ходе приготовления криосрезов. Так была поставлена следующая задача, а именно создание первичной культуры из клеток опухолевой ткани. Было обнаружено, что в первичной культуре LLC хорошо детектируются волокна тубулина. В условиях, оптимальных для проведения SMLM на основе SiR-tubulin, были получены серии изображений и построены реконструкции тонкой структуры тубулинового цитоскелета. С помощью методов локализационной микроскопии с применением флуорогенных красителей SiR-actin и SiR-tubulin были получены субдифракционные изображения актина и тубулина в опухолевых клетках и тканях.

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПАЦИЕНТОВ КЛИНИК ЕГИПТА

Г. О. О. Хассан, Н. С. Карамова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская 18;
gamal_micro84@yahoo.com

Известно, что условно-патогенная микрофлора дыхательных путей играет важную роль в развитии респираторных заболеваний. Проблема также осложняется все более возрастающей устойчивостью микроорганизмов к применяемым в настоящее время антибиотикам. Целью данного исследования явилась оценка антибиотикочувствительности изолятов микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей пациентов клиник Египта.

Определение антибиотикочувствительности проводили с использованием диско-диффузионного метода согласно стандартам EUCAST (Методические указания МУК 4.2.1890–04)/CLSI. Установлено, что грамотрицательные бактерии *Acinetobacter baumannii* проявляют устойчивость ко всем исследованным антибиотикам (амикацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, ампициллин/сульбактам, триметоприм/сульфаметоксазол), а *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* – к ампициллину, амоксициллин/клавулановой кислоте, цефтазидиму, цефотаксиму, цефтриаксону, ципрофлоксацину, амикацину. *Enterobacter cloacae* демонстрировал устойчивость к ампициллину, амоксициллин/клавулановой кислоте, цефтазидиму, цефотаксиму, цефтриаксону. Грамположительные бактерии *Staphylococcus epidermidis* были устойчивы к пенициллину, амоксициллин/клавулановой кислоте, оксациллину, цефокситину, гентамицину, эритромицину, а *S. aureus* – к пенициллину и гентамицину. Нами была исследована способность грамотрицательных бактерий к продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемаз, обеспечивающих устойчивость к антибиотикам. С использованием метода двойных дисков и метода инактивации карбапенемов установлено, что *A. baumannii*, *E. coli* и *K. pneumoniae* способны синтезировать БЛРС. В то же время, ни один из исследованных видов бактерий не обладал карбапенемазной активностью.

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОДВИЖНОСТИ КЛЕТОК НА ГЛАДКОЙ ПОВЕРХНОСТИ

А. А. Харчева, А. А. Дубков, В. Ю. Забурдаев

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
aa.kharcheva@gmail.com

В последние годы, в связи с актуальными проблемами биоинженерии и биомедицинских исследованиях, большое внимание уделяется анализу движения бактерий и клеток. Подход к подвижности клеток как к случайному движению является весьма плодотворным. Применение мощных методов теории случайных процессов приводит к более глубокому пониманию очень медленного движения этих биологических объектов, что позволит в перспективе эффективно управлять им. Как было показано ранее, очень простые стохастические модели, как, например, процесс Орнштейна-Уленбека, зачастую не могут адекватно описать экспериментально наблюдаемые траектории клеток. Поэтому существует необходимость в построении более продвинутых моделей, которые могут быть использованы для количественной оценки и классификации траекторий клеток с небольшим числом параметров.

В данной работе показано, что скорость клеток на гладкой поверхности может быть адекватно описана стохастическим интегро-дифференциальным уравнением с экспоненциальной функцией памяти и мультипликативным белым гауссовым шумом. Получена замкнутая система уравнений для корреляционной функции скорости клеток для конкретно выбранной нелинейности в начальной системе уравнений Ланжевена. В устойчивом состоянии данная система может быть решена точно, а решение представлено в виде суммы двух экспонент. В то же время расчет среднеквадратичного отклонения подтвердил наличие переключающихся режимов диффузии клеток: баллистический режим движения на малых временах сменяется диффузионным в асимптотике.

Полученные нами теоретические результаты находятся в хорошем согласовании с экспериментальными данными. Такие выводы были сделаны на основании проведенного статистического анализа экспериментальных данных по подвижности 30-ти клеток (НИН 3Т3 фибробласты) на ровной двумерной подложке, записанных на временном промежутке 3600 минут с интервалом в 5 минут. Изначально все траектории клеток были “привязаны” к началу координат. При статистическом анализе применялось усреднение по ансамблю и по времени записанных временных рядов. В качестве основных характеристик рассматривались: среднее значение и среднеквадратичное отклонение скорости клеток, корреляционные функции проекций скорости и модуля скорости, гистограммы скорости, среднеквадратичное отклонение клеток от начала координат (СКО).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 16-12-10496.

ВЛИЯНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА НА АКТИВНОСТЬ ДЫХАНИЯ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

А. Д. Хлопков, О. Н. Шерстнева, Л. М. Сурова, В. С. Сухов, В. А. Воденев
Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anbion@yandex.ru

В естественных условиях среды растения постоянно сталкиваются с действием различных раздражающих факторов. Для выживания и нормального функционирования растению необходимо приспосабливаться к изменениям внешних условий. Важную роль в развитии процессов адаптации играет координация физиологических процессов в целом организме, осуществляемая при участии дистанционных сигналов. Одним из важнейших физиологических процессов, обеспечивающим растение энергией, является дыхание. Целью работы явилось изучение регуляции активности дыхания распространяющимся электрическим сигналом – переменным потенциалом.

Исследования проводили на 2–3-недельных проростках гороха посевного (*Pisum sativum*). Электрическую активность регистрировали внеклеточно с помощью многоканальной установки. Активность дыхания на листе целого растения осуществляли с помощью инфракрасный газоанализатор GFS-3000. Активность дыхания протопластов измеряли полярографическим методом (Охуgraph Plus System).

Распространение переменного потенциала (ВП) вызывает переходное увеличение активности дыхания. Величина изменений активности дыхания различна в случае индукции ВП раздражителями различной природы (ожог, нагрев, механическое повреждение). Для изучения механизмов индукции ответа дыхания ВП были выполнены эксперименты на модельных системах – протопластах, изолированных из листьев гороха. Искусственное увеличение концентрации Ca^{2+} внутри клетки с помощью ионофора A23187 приводило к переходной активации дыхания, длительность которой была сопоставима с таковой при распространении ВП. Высказано предположение, что имеющее место при генерации ВП увеличение концентрации Ca^{2+} в клетке, служит фактором, индуцирующим активацию дыхания.

ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ ИНДУЦИРУЮТ ТРАНСПОРТ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ МИТОХОНДРИЙ

Е. И. Хорошавина, М. В. Дубинин, В. Н. Самарцев

Марийский государственный университет, 424001, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
katya_bs@mail.ru

Известно, что желчные кислоты играют важную роль в процессе переваривания пищи. Желчные кислоты также являются одними из возможных природных регуляторов транспорта ионов калия и кальция. Кроме того, в настоящее время рассматривается роль желчных кислот как сигнальных молекул, регулирующих различные пути метаболизма в клетках. Гидрофобные желчные кислоты как первичная хенодезоксихолевая, так и вторичные литохолевая и дезоксихолевая обладают выраженной дозозависимой цитотоксичностью, которая проявляется при холестазе. С другой стороны, желчные кислоты активно применяются как лекарственные средства, в том числе, при коррекции гипоксических состояний. Так, показано, что хенодезоксихолевая и дезоксихолевая кислоты подавляют активность гипоксического транскрипционного фактора HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor), тем самым оказывая значительное влияние на прогрессию и исход гипоксических состояний.

В настоящей работе на изолированных митохондриях печени крыс нами показано, что желчные кислоты, помимо индукции кальций-зависимой митохондриальной поры, способны модулировать транспорт ионов через внутреннюю мембрану органелл. В условиях дезэнергизации митохондрий желчные кислоты индуцируют выход Ca^{2+} из матрикса. Выход этих ионов не связан с повреждением желчными кислотами внутренней мембраны митохондрий, так как сопровождается генерацией $\Delta\psi$ – формированием диффузионного потенциала. Нами предположено, что наряду с индукцией выхода Ca^{2+} из матрикса желчные кислоты способны транспортировать ионы водорода и калия в обратном направлении, т.е. осуществлять обмен $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ и $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$. Полученные результаты позволяют рассматривать активацию ионного транспорта, индуцированного желчными кислотами, в качестве потенциального инструмента для защиты клеток от гипоксических повреждений различной этиологии.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № 17.4999.2017/8.9).

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФДТ ВЫСОКОМЕТАСТАЗИРУЮЩЕГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

*Е. В. Храмцова¹, Е. В. Губарькова¹, В. В. Елагин¹, Н. П. Павлова¹, А. А. Шумилова¹,
А. А. Мусеев², М. А. Сироткина¹*

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *shigo-94@bk.ru*

²Институт прикладной Физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

В настоящее время для лечения и диагностики злокачественных новообразований используются высокотехнологичные методы, одним из которых является фотодинамическая терапия (ФДТ). Выделяют несколько механизмов влияния ФДТ это, прежде всего, повреждение опухолевых клеток, повреждение сосудов и иммунный ответ. Повреждение микрососудистого русла можно зарегистрировать сразу после проведенной терапии и на разных стадиях методом оптической когерентной томографии (ОКТ) с функцией ангиографии. Суть ОКТ ангиографии состоит в оценке характера изменчивости спекловой структуры и позволяет увидеть сосуды с неизменным кровотоком в норме и при патологии. Сосуды, подвергшиеся тромбозу в результате ФДТ на ОКТ ангиограммах, не визуализируются. Метод ОКТ ангиографии не требует введения контрастных агентов, проводится в реальном времени с высоким разрешением и характеризуется простотой использования, что открывает возможность для мониторинга ответа опухоли на терапию. Цель исследования – оценить эффективность фотодинамической терапии на мышинной модели рака молочной железы 4T1 методом ОКТ ангиографии.

Опухолевая модель: рак молочной железы 4T1 (n=12) привитая в дозе 200000 опухолевых клеток на ухо мышей линии Balb/c. Фотодинамическая терапия выполнена с препаратом Фотодитазин (Вета-гранд, россия), введенным внутривенно в дозе 5 мг/кг, когда опухолевый узел был сформирован и хорошо пальпировался. ФДТ проводили через 1 час после введения фотосенсибилизатора диодным лазером с длиной волны 659 нм в дозе 100 Дж/см² с плотностью мощности 100 мВт/см². Визуализация микрососудистого русла опухоли и нормальной ткани до и на разные сроки после ФДТ осуществлялась на приборе мультимодальной ОКТ (БиоМедТех, Нижний Новгород, Россия). Эффективность ФДТ оценивали визуально по торможению роста опухоли в течение 7 дней.

Визуально, на 7-й день после ФДТ в опытной группе животных наблюдали уменьшение объема опухоли в 2,5 раза по сравнению с исходным значением, при этом в контрольной группе животных объем опухоли увеличился в 3,5 раза. Эти данные свидетельствует об эффективности ФДТ. Методом ОКТ ангиографии изучили реакцию сосудистого русла на ФДТ. Получили, что исходно опухолевая модель мышинного рака молочной железы 4T1 является плохо васкуляризированной, сосудистая сеть визуализируется преимущественно по периферии новообразования. Через 24 часа после ФДТ у мышей в опытной группе в опухоли сосуды переставали визуализироваться, а в окружающей опухоль ткани наблюдалось уменьшение плотности сосудистой сетки разной степени выраженности за счет расстройств кровообращения (стаз и тромбоз). При выраженном снижении плотности сосудистой сетки происходило неуклонное уменьшение объема опухоли в течение 7 дней. У мышей с незначительным снижением плотности сосудистого русла, объем опухоли постепенно уменьшался, но на 7 день рост опухоли начал возобновляться.

Показали, что метод ФДТ является эффективным для опухолевой модели рака молочной железы 4T1. Методом ОКТ ангиографии наблюдали сосудистую реакцию на ФДТ в опухоли и окружающей ткани и выявили зависимость эффективности ФДТ от выраженности сосудистой реакции.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для молодых ученых № МК-905.2017.

МЛЕКОПИТАЮЩИЕ ОКРЕСТНОСТЕЙ ГОРОДА ЙОШКАР-ОЛА***В. А. Чемяков¹, В. В. Дробот², В. И. Дробот¹, А. В. Дрангой¹***¹Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ул. Ленинские горы, 1

Материалом для работы послужили результаты зимних маршрутных учетов млекопитающих, проведенных в полевые сезоны 2011–2013 гг. и 2016–2017 гг. В лесных биотопах окрестностей города было заложено 4 маршрута суммарной протяженностью 25,4 км. Учеты проводились в январе-феврале. Пригородные леса в течение всего года активно используются в рекреационных целях. Кроме того, на обследованной территории в большом количестве располагаются линейные объекты (линии электропередачи, газопровод, железнодорожная линия), естественной преградой в зимний период для многих видов является протяженный незамерзающий участок реки Малая Кокшага. Расчлененность территории и высокая степень рекреационной нагрузки на пригородные леса представляют определенные проблемы для диких млекопитающих. За период исследований были обнаружены следы жизнедеятельности 10 видов, 6 семейств, 4 отрядов: зайцеобразные (*Lagomorpha*), грызуны (*Rodentia*), хищные (*Carnivora*) и парнокопытные (*Artiodactyla*). Наблюдения показывают, что лоси и волки посещают территорию спорадически и используют ее как транзитную, не задерживаясь здесь надолго. Кабаны в количестве 2 особей отмечались до 2012 г. постоянно, переживая зимний период в заболоченных участках поймы реки и на заброшенных площадях городских очистных сооружений. Периодически на территории лесопарка Сосновая Роща пытались заселиться норки. Последние такие попытки были зафиксированы в 2012 г. Проблемным остается вопрос состояния популяции ласки. Так в 2011–2012 гг. их численность составляла 6 особей (5,0 особей/1000 га), в 2012–2013 гг. было учтено 3 особи (2,5 особей/1000 га), а в последующие годы никаких следов жизнедеятельности этих зверьков обнаружено не было. Постоянными обитателями обследованной территории можно считать 5 видов: заяц-беляк, белка обыкновенная, лисица обыкновенная, куница лесная и горностай. Наиболее стабильной все годы оставалась численность куницы. Ежегодно на учетах отмечалось по 2 особи, которые обитали на постоянных участках, разграниченных незамерзающим руслом реки. Плотность населения куниц в лесопарковой зоне составляла 1,67 особей/1000 га, что в отдельные годы значительно превышало аналогичный показатель в охотничьих угодьях Республики Марий Эл. Численность популяции горностая можно считать стабильной, ежегодно регистрировалось 3–4 особи (2,50–3,33 особи/1000 га). Стабильной является численность лисицы – 4 особи. Постоянными остаются и границы индивидуальных участков животных. Плотность населения лисиц составляла 2,5 особей/1000 га, что сопоставимо с аналогичными значениями в охотничьих хозяйствах республики (2,36 особей/1000 га). Незначительные колебания показателей учета отмечены для популяции зайца-беляка. Постоянное количество животных характерно для лесопарка Дубовая Роща (1 особь) и окрестностей ботанического сада (2 особи). Менее стабильна численность зайцев в лесопарке Сосновая Роща, в разные годы она колебалась от 5 до 8 особей (4,7–8,98 особей/1000 га). Такие колебания, вероятно, связаны с нестабильностью кормовой базы в отдельных биотопах. Значительные колебания показателей учетов характерны для популяции белки обыкновенной. В малокормные годы (2011–2013) на территории лесопарка Сосновая Роща обитало 2–3 особи (среднегодовая плотность населения 2,5 особей/1000 га). В сезон 2016–2017 гг., когда отмечался высокий урожай хвойных пород в тех же биотопах было учтено уже 10 животных. Кроме того, 3 особи заселяли территорию в окрестностях ботанического сада. Плотность населения белок в окрестностях города в этот период составляла 7,65 особей/1000 га.

Таким образом, несмотря на совокупность большого числа негативных факторов фауна и население млекопитающих в окрестностях столицы Республики Марий Эл характеризуется большим многообразием и высокой численностью.

ТЕМПЕРАТУРНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА IPrA ИЗ *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII*

Л. С. Чернова^{1, 2}, А. Р. Каюмов^{1, 2}, И. Е. Вишняков¹

¹Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
LSCh-888@live.com

Живые клетки отвечают на повышение температуры и некоторые другие стрессовые воздействия синтезом специфического набора белков, называемых белками теплового шока (БТШ). Среди всех известных шаперонов, на данный момент, малые БТШ считаются самыми эффективными. Наличие мБТШ у микоплазм, характеризующихся значительно редуцированными геномами, указывает на фундаментальное значение мБТШ для устойчивости бактериальной клетки к стрессам. Однако механизмы распознавания белков-субстратов белками из этого семейства остаются слабо изученными. Целью данной работы было выяснить молекулярные механизмы распознавания субстратов мБТШ IPrA из *Acholeplasma laidlawii* в ответ на условия температурного стресса.

Сшивка белков глутаровым альдегидом в клетках микоплазмы *A. laidlawii*, выращенных в условиях, близких к оптимальным (+30°C, +37°C), а также после кратковременного температурного стресса (+4°C, +42°C), показала, что белок IPrA *in vivo* образует высокомолекулярные комплексы. Методами pull down анализа и ко-иммуноперципитации идентифицированы белки, с которыми ко-элюируется IPrA из экстракта клеток *A. laidlawii*, выращенных при различных температурах. Белки идентифицированы с помощью масс-спектрометрического анализа. Выявлены различия среди белков-мишеней IPrA при температурах +4°C и +42°C. Приводится биохимическая характеристика идентифицированных белков-субстратов. Сравнительный анализ наборов субстратных белков позволит внести ясность в механизмы взаимодействия мБТШ IPrA из микоплазмы *A. laidlawii* с белками-партнерами в зависимости от температурных условий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект №17-74-20065).

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ МУЦИНА 1 НА ЭКСПРЕССИЮ Вах И VCL-2 ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

А. А. Чиркунова, С. В. Утукова, П. И. Васильчиков

Научно-исследовательский центр молекулярной биологии и биомедицины Университета Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, ул. Ошарская, 8д; *anastasiyachirkunova93@mail.ru*

В прогрессии опухолей важную роль играет гликопротеин Муцин 1 (MUC1), который экспрессируется эпителиальными клеткам легких, трахеи, ЖКТ и секреторными поверхностями печени и почек. MUC1 является полифункциональным белком, оказывающим влияние на различные клеточные события. В ответ на внешние сигналы MUC1 может транслоцироваться в ядро и передавать сигналы к клеточной пролиферации, дифференциации, метастазированию и секреции специализированных клеточных продуктов. В нормальной эпителиальной клетке MUC1 представлен в малом количестве, тогда как повышение его экспрессии в клетках карцином коррелирует с плохим прогнозом для пациентов. Ранее в НИЦ МБМ ИБМ ННГУ им. Н.И. Лобачевского было показано, что одноцепочечные рекомбинантные мини-антитела против MUC1 (scFv anti MUC1) на основе переменных фрагментов мышинных моноклональных антител ИКО25 и иммунотоксин, представляющий собой scFv, слитый с 112-175 а. к. ротавирусного энтеротоксина NSP4 (scFv-NSP4) вызывают гибель MUC-1 позитивных опухолевых клеток молочной железы (MCF-7) и толстой кишки (Colo-205). Однако механизмы гибели клеток остались неизученными. Целью данной работы явилась оценка влияния белков против MUC-1 на экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию апоптоза (Вах и VCL-2), клетками линий MCF-7 и Colo-205.

Клеточные линии инкубировали с scFv и scFv-NSP4 при 37 °С в течении 24 ч. Нуклеиновую кислоту выделяли из лизата клеток с использованием 4 М гуанидин тиоционата и смеси фенола с хлороформом. Препарат нуклеиновых кислот был обработан ДНКазой I, реакцию обратной транскрипции проводили с помощью ревертазы MMLV, для синтеза кДНК применялись random-праймеры. Уровни экспрессии мРНК оценивали методом ОТ-ПЦР в реальном времени. В одной пробирке проводили реакцию для детекции уровней мРНК Вах или VCL-2 и мРНК генов домашнего хозяйства тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы, активационного протеина ζ и β -актина. Для оценки баланса между клеточной выживаемостью и смертью было вычислено отношение уровней экспрессии мРНК VCL-2 к Вах. Анализ полученных результатов проводили с использованием программ: «REST 2009 1.0», «GraphPad Prism 5.0», «STATISTICA 8.0».

Связывание scFv с MUC1 на поверхности клеток линии MCF7 не приводило к существенному изменению уровней мРНК Вах и VCL-2. Однако уровень мРНК антиапоптотического VCL-2 превышал Вах в 1,8 раза, что может свидетельствовать о сдвиге баланса в сторону клеточной выживаемости. Действие scFvNSP4 приводило к повышению в 3 раза экспрессии проапоптотического Вах, при этом уровень мРНК Вах в 1,5 раза превышал уровень мРНК VCL-2, что говорит о сдвиге баланса в сторону гибели клеток. При инкубации клеточной линии Colo-205 с scFv наблюдалось незначительное изменение отношения уровней мРНК Vcl-2 к Вах, в то время как в контрольном эксперименте зафиксировано резкое снижение отношения Vcl-2 к Вах в 4 раза, что указывает на увеличение уровня мРНК проапоптотического гена Вах. Действие scFv-NSP4 приводило к незначительным флуктуациям уровней мРНК исследуемых генов, при этом баланс также был сдвинут в сторону выживаемости клеток.

Таким образом, установлено, что действие иммунотоксина scFv-NSP4 приводило к повышению экспрессии Вах клетками линии MCF-7, что может говорить об активации проапоптотических белков и гибели клеток в следствие апоптоза. Воздействие scFv не оказывало существенного влияния на баланс экспрессии про- и антиапоптотических генов Вах и VCL-2 клетками линий MCF-7 и Colo-205.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КРАНИОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НИЖЕГОРОДСКОЙ И КАЗАХСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИЙ ОНДАТРЫ

А. В. Чуева, А. А. Брагазин

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
annet2494@gmail.com

Акклиматизация нового вида сопровождается появлением морфологических изменений в популяциях. Особый интерес представляют виды, интродуцированные в условия, сходные с изначальными, такие как ондатра (*Ondatra zibethicus*).

Изучались различия краниометрических показателей осевого черепа географически удалённых друг от друга популяций ондатры. Материалом для исследований послужили выборки черепов ондатры Зоологического музея ННГУ им. Н.И. Лобачевского двух популяций: окрестности д. Аристово Семеновского р-на Нижегородская области (собраны в 1949 г.) и окрестности р. Или Балхашского р-на Казахской ССР (собраны в 1951 г.). Для анализа были использованы черепа взрослых особей, возраст которых составлял 9 и более месяцев. Возраст ондатр определяли по особенностям формы черепа и степени развитости ламбдоидальной и сагиттальной гребней. Объём выборок, использованных в анализе, составил для нижегородской популяции 15 особей, для казахстанской – 21 особь. На черепках были проведены 8 стандартных краниометрических промеров: кондилобазальная длина (КБД), скуловая ширина (СШ), межглазничная ширина (МГШ), высота черепа в области мозговой капсулы (ВЧ), длина резцового отверстия (ДРО), длина диастемы верхней (ДДВ), альвеолярная длина верхнего зубного ряда коренных зубов (ДВЗР), наибольшая ширина черепа (НШ). Измерения производились с помощью электронного штангенциркуля с точностью до 0,01 мм. Для оценки статистической значимости различий выборочных значений отдельных признаков использовался критерий Стьюдента, по совокупности – дискриминантный анализ. Статистическая обработка производилась в программе STATISTICA 10.0.

Статистический анализ проводился с учетом половой дифференциации выборок. Для этого на первом этапе был проведён анализ внутривидовых половых различий по каждому из 8 краниометрических признаков в обеих популяциях. Результат анализа половых различий с помощью критерия Стьюдента, показал отсутствие статистически значимых различий ($p > 0,05$) между самцами и самками по всему комплексу краниометрических промеров как в нижегородской, так и в казахстанской популяциях. Это позволило на следующем этапе анализа межвидовых различий объединить выборки из самцов и самок. Последний проводился также с использованием критерия Стьюдента и не показал статистически значимых различий ($p > 0,05$) между географически удалёнными популяциями по каждому из 8 краниометрических промеров. Для подтверждения отсутствия статистически значимых различий был проведен дискриминантный анализ по 8 краниометрическим промерам. Результат анализа показал отсутствие статистической значимости у лямбды Уилкса ($\lambda = 0,79$, $p = 0,65$), а, следовательно, и у всей модели.

Таким образом, на данном этапе исследований с помощью краниометрического анализа 8 стандартных промеров осевого черепа географически удалённых популяций ондатры не удалось выявить статистически значимых различий как на внутривидовом, так и на межвидовом уровнях. Полученные результаты можно объяснить, тем, что, во-первых, стандартный краниометрический анализ может обладать ограниченными диагностическими возможностями по выявлению межвидовых различий, во-вторых, особи, чьи черепа были использованы в анализе, обитали в сходных условиях. Для проверки этих утверждений представляет интерес морфологический анализ цифровых 3D-моделей черепов данных выборок ондатры с использованием методов геометрической морфометрии, что является целью наших дальнейших исследований.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ГИСТОНА Н1.3 НА ХАНТАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *IN VITRO*

Д. С. Чулпанова, В. В. Соловьева, С. Ф. Хайбуллина, А. А. Ризванов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
daryachulpanova@gmail.com

Хантавирусы являются возбудителями двух групп заболеваний у людей: геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) и хантавирусного легочного синдрома (ХЛС). Однако в настоящее время отсутствуют эффективные методы терапии для данных заболеваний. Лечение геморрагических лихорадок, вызываемых хантавирусами, сводится лишь к поддерживающей терапии. В настоящее время ряд клинических исследований показывает эффективность использования рекомбинантного гистона Н1.3 в терапии некоторых форм рака и вирусных инфекций.

В данной работе мы исследовали влияние рекомбинантного гистона Н1.3 на инфицирование клеток человека хантавирусом Prospect Hill virus (PHV) *in vitro*. Уровень инфицирования клеток определили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) по экспрессии матричной РНК гена, кодирующего S сегмент хантавируса.

Экспрессия мРНК вирусного гена, кодирующего S сегмент вируса PHV, значительно снизилась в инфицированных клетках при добавлении рекомбинантного гистонного белка по сравнению с инфицированными клетками, в которые гистон не добавлялся.

Для определения механизма ингибирования вирусной инфекции мы проанализировали экспрессию мРНК регулируемого интерфероном гена MxA, хемокинов RANTES, IP10 и регулятора апоптоза Bcl2. Не было обнаружено статистически достоверных различий в экспрессии мРНК генов MxA и Bcl2 в клетках A549, инфицированных PHV, в присутствии рекомбинантного гистона Н1.3 или без него. Инкубация клеток A549 с гистоном Н1.3 уменьшала экспрессию мРНК RANTES и IP10 в 4 и 100 раз соответственно, что указывает на снижение вирусной нагрузки.

Таким образом, нами показано, что рекомбинантный гистон Н1.3 ингибирует хантавирусную инфекцию *in vitro*, что потенциально дает возможность применения рекомбинантного гистонного белка Н1.3 в качестве лекарственного препарата для терапии хантавирусных инфекций.

Работа была поддержана Программой повышения конкурентоспособности КФУ.

ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВАЦИЯ ГЕНА ДИСФЕРЛИНА ЧЕЛОВЕКА В МУТАНТНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОЖИ ПАЦИЕНТА С ДИСФЕРЛИНОПАТИЕЙ

А. А. Шаймарданова¹, Д. Р. Аглиуллина¹, И. Г. Старостина¹, В. В. Соловьева¹,
И. А. Яковлев², Р. В. Деев², А. А. Ризванов¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
aliceshaimardanova@mail.ru

²Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова,
390026, Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Дисферлинопатии – группа нейромышечных заболеваний, возникающих вследствие отсутствия/нарушения функциональности белка дисферлина вследствие мутаций в гене *dysf*. Дисферлин играет важную роль в репарации мембран мышечных клеток. Синтез дефектного белка приводит к нарушению процессов репарации в мышечной ткани и ее атрофии. Несмотря на высокую интенсивность исследований дисферлинопатии остаются группой неизлечимых наследственных заболеваний. Одной из основных причин низкой эффективности методов лечения является отсутствие модели, наиболее точно воспроизводящей патологические процессы данного заболевания. Широко используются модели на основе животных, однако из-за значительных генетических отличий они не способны в полной мере воспроизвести все особенности протекания болезни у человека. Перспективным способом лечения дисферлинопатий в настоящее время является генная терапия и модельные системы на основе клеточных линий человека, дефектных по дисферлину, представляют интерес для тестирования новых генотерапевтических препаратов.

Известно, что дисферлин в большом количестве экспрессируется в мышечных клетках, однако в связи с определенными трудностями выделения и культивирования данного типа клеток возникает необходимость поиска альтернативных источников клеточного материала. В качестве клеточной модели для исследования дисферлинопатий в настоящей работе предложены фибробласты кожи человека, в которых с использованием системы CRISPR-Cas9 SAM активирована экспрессия дисферлина.

В настоящей работе из кожи пациента с дисферлинопатией с мутацией в 26 экзоне гена *dysf* были выделены фибробласты и иммортализованы путем инактивации белка-онкосупрессора p53. Для этого нативные фибробласты были генетически модифицированы рекомбинантным лентивирусом, кодирующим кнРНК к нуклеотидной последовательности гена p53. Рекомбинантные лентивирусные частицы получали путем ко-трансфекции клеток НЕК293Т кальций-фосфатным методом с использованием векторной, упаковочной и оболочечной плазмид. Отсутствие экспрессии p53 в генетически модифицированных фибробластах подтверждали с помощью вестерн-блот анализа и ПЦР в режиме реального времени.

Для транскрипционной активации иммортализованных фибробластов использовали рекомбинантные лентивирусы, кодирующие транскрипционные факторы Р65 и VP64 а также гидовую РНК. После лентивирусной трансдукции проводили селекцию генетически модифицированных иммортализованных фибробластов с использованием антибиотиков зеоцина, гигромицина и бластицидина. Полученная таким образом культура фибробластов с экспрессией мутантной формы дисферлина может быть использована для дальнейших исследований молекулярных механизмов патогенеза дисферлинопатий и разработки новых технологий терапии нейромышечных заболеваний.

ВЛИЯНИЕ КОРОНЫ ИЗ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА РАЗМЕР АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С КЛЕТКАМИ В КУЛЬТУРЕ

С. Шанвар¹, Л. М. Сенча¹, Е. Л. Гурьев¹, А. Б. Костюк¹, А. С. Смышляева¹, Р. Альзеибак¹, И. В. Балалаева¹, В. А. Воденев¹, А. В. Звягин^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
samahshanwar@gmail.com

²Университет Маккуори, 2109, Австралия, Сидней, Балаклава-роуд

На сегодняшний день наночастицы представляют собой один из наиболее перспективных инструментов для диагностики, доставки лекарств и мониторинга терапевтического ответа. Однако на практике, при попадании в биологические среды наночастицы быстро адсорбируют белки, образуя на своей поверхности так называемую протеиновую корону (ПК). При этом изменяются физико-химические свойства НЧ такие как размер, заряд, склонность к агрегации и соответственно меняется взаимодействие частиц с биологическими объектами. Таким образом, понимание взаимодействия НЧ с биологическими системами является ключевым для их эффективного и безопасного применения. Целью данной работы являлось исследование образования протеиновой короны на поверхности наночастиц на примере антистоксовых нанофосфоров (НАФ), покрытых положительно заряженным полиэтиленимином (НАФ-ПЭИ) и отрицательно заряженной полиакриловой кислотой (НАФ-ПАК).

Размер НАФ-ПЭИ и НАФ-ПАК до и после формирования протеиновой короны измеряли методом динамического светорассеяния с использованием прибора Zetasizer Nano ZS. Для формирования протеиновой короны на поверхности НЧ использовался раствор бычьего сывороточного альбумина (БСА) в физиологической концентрации (30 мг/мл). НАФ-ПЭИ и НАФ-ПАК (1 мг/мл) смешивали с раствором БСА в соотношении 2:9 соответственно и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч. Очистка суспензии наночастиц со сформированной протеиновой короной проводилась трижды путем центрифугирования и ресуспендирования в PBS для удаления несвязавшихся белков. Для определения абсолютной концентрации наночастиц использовалась оптическая томографическая система с возбуждением в ближней ИК области и регистрацией изображений в видимом диапазоне.

Взаимодействие наночастиц с клетками изучали на культуре клеток аденокарциномы молочной железы человека SKBR-3 и клетках яичника китайского хомячка линии СНО. Для приготовления микроскопических образцов 2 мл клеточной суспензии высевали на покровные стекла, обработанные раствором полилизина и помещенные в лунки 6-ти луночного планшета. Клетки подращивали на протяжении 24 часов, после чего среду заменяли на бессывороточную, в инкубационную среду вносили суспензию контрольных НЧ или частиц с ПК до конечной концентрации 1 мкг/мл. Затем клетки инкубировали в присутствии НЧ при +4°C на протяжении 1 часа. Клетки трижды отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS) и фиксировали с помощью раствора формальдегида. Покровные стекла помещали в каплю глицерина на предметных стеклах и запаивали. Препараты визуализировали с помощью широкопольного микроскопа при возбуждении на длине волны 980 нм и регистрации сигнала в спектральном диапазоне 400–842 нм.

В результате исследования показано увеличение размера НАФ после формирования протеиновой короны, а также снижение агрегативной устойчивости НАФ, что приводило к изменению взаимодействия с клетками в культуре. В дальнейшем планируется исследование процесса образования ПК более детально, а также будут проанализирована взаимосвязь поверхностных свойств наночастиц и скорости/толщины образования на них короны.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (проект 14.Z50.31.0022).

ИЗУЧЕНИЕ ВЯЗКОСТНЫХ СВОЙСТВ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В СИСТЕМАХ *IN VITRO*

Л. Е. Шимолина^{1,2}, М. В. Ширманова², М. К. Куимова³, М. М. Лукина², Е. В. Загайнова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shimolina.l@mail.ru

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603950, Нижний Новгород,
пл. Минина и Пожарского, 10/1

³Имперский колледж Лондона, Великобритания, Южный Кенсингтон, SW7 2AZ

Вязкость является одним из важнейших свойств, характеризующих биологическую систему. Изменение значения вязкости отражается на физических и химических процессах, имеющих первостепенное значение для клетки. В биологических системах изменения вязкости на внутриклеточном уровне могут быть связаны с серьезными изменениями физиологического состояния клетки. Кроме того, изучение микровязкости опухолевых клеток в 3D модели опухолевого узла представляет особый интерес, так как опухолевый сфероид обладает свойствами, отражающими особенности опухолей *in vivo*. Целью исследования было изучение вязкостных свойств живых опухолевых клеток в системах *in vitro* – монослойной клеточной культуре и опухолевых сфероидов.

Исследование выполнялось на клеточной линии рака шейки матки человека Hela Kyoto. Оценка микровязкости клеток проводилась с использованием флуоресцентного молекулярного ротора BODIPY2. Визуализацию сигнала ротора проводили методом FLIM (fluorescence lifetime imaging microscopy). Для двухфотонной флуоресцентной микроскопии с временным разрешением использован многофотонный томограф MPTflex (JenLab, Германия). Двухфотонное возбуждение флуоресценции ротора производили на длине волны 800 нм, регистрацию – в диапазоне 409–660 нм. Методики визуализации микровязкости в монослойных культурах и опухолевых сфероидов описаны нами ранее. Оценка микровязкости клеток сфероидов осуществлялась на 3, 5, 7 и 10 день роста.

По полученным данным флуоресцентной микроскопии с временным разрешением в монослойной культуре клеток молекулярный ротор BODIPY2 имеет мембранную локализацию в течение первых 20 минут инкубации. Время жизни ротора в цитоплазматической мембране клеток Hela Kyoto в монослойной культуре составляет $2,59 \pm 0,05$ нс, что соответствует вязкости 326 ± 14 сП.

В исследовании на 3D культуре время жизни флуоресценции BODIPY2 анализировалось в центре и на периферии сфероидов на разных сроках роста. Измерения времени жизни флуоресценции и последующий расчет вязкости не показали существенных различий между значениями вязкости клеток для сфероидов разного размера, а также между центральной и периферической зонами сфероида. Было показано, что время жизни флуоресценции ротора в центре и по периферии сфероидов составляет $2,58 \pm 0,04$ нс, что соответствует 359 ± 11 сП.

Полученные данные о микровязкости живых клеток в сфероидов хорошо коррелируют с данными, полученными для монослойной культуры клеток, а также с литературными данными.

*Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского Фонда
Фундаментальных Исследований (грант № 18-315-00373 мол_а).*

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ АСТРОЦИТАРНОГО ОКРУЖЕНИЯ ДЕНДРИТНЫХ ШИПИКОВ В СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЕ

Е. А. Шишкова¹, Н. И. Гаврилов¹, И. В. Краев², А. В. Семьянов^{1,3}

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shishkovahelen@mail.ru

²Открытый университет, МК7 6АА, Милтон-Кинс, Великобритания

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Соматосенсорная кора состоит из шести слоев. В первом слое располагаются аксоны и дендриты нейронов нижележащих слоев и в нем наблюдается высокая плотность глиальных клеток. Во втором слое располагаются сомы малых пирамидных нейронов, а плотность глиальных клеток снижается. Взаимодействие астроцитарных отростков и отдельных синапсов в этих слоях еще недостаточно изучено. Целью данной работы был ультраструктурный анализ астроцитарного окружения дендритных шипиков в первом и втором слоях соматосенсорной коры.

Головной мозг мышей линии C57NL6N фиксировался с помощью интракардиальной перфузии раствором 3% параформальдегида и 0,5% глутаральдегида. Обработанные образцы заливались в эпоксидную смолу для приготовления ультратонких серийных срезов с помощью ультратома Leica UC7. Серийные изображения получали с помощью электронного микроскопа JEM 1400 (JEOL, Япония). Изображения сшивались и выравнивались для дальнейшей сегментации и трехмерной реконструкции дендритных шипиков и астроцитарных отростков. Реконструкция проводилась с помощью программы Reconstruct. Дендритные шипики делились на два класса: тонкие шипики (без шипикового аппарата) и грибовидные шипики (с шипиковым аппаратом). Астроцитарные отростки также делились на два класса: веточки (содержащие органеллы) и листочки (уплощенные отростки без органелл).

Плотность тонких шипиков составила $1,145 \text{ мкм}^{-3}$ в первом слое и $0,73 \text{ мкм}^{-3}$ во втором слое. Плотность грибовидных шипиков составила $0,38 \text{ мкм}^{-3}$ в первом слое и $0,44 \text{ мкм}^{-3}$ во втором слое. Было построено распределение объемной фракции астроцитарных отростков с расстоянием от шипиков. Статистические различия были проанализированы с помощью двухфакторного дисперсионного анализа для повторных измерений:

Объемная фракция астроцитарных листочков вокруг тонких шипиков была меньше в первом слое, чем во втором: $df=1$, $F=7,9$; $p=0,006$; расстояние: $df=9$, $F=25,7$; $p<0,0001$; слой·расстояние $df=9$, $F=0,1$; $p=0,997$.

Объемная фракция астроцитарных листочков вокруг грибовидных шипиков была также меньше в первом слое, чем во втором: $df=1$, $F=13,9$; $p=0,001$; расстояние: $df=9$, $F=32,2$; $p<0,0001$; слой·расстояние: $df=9$, $F=1,04$; $p=0,379$.

Объемная фракция астроцитарных веточек была больше вокруг тонких шипиков в первом слое: $df=1$, $F=4,7$; $p=0,037$; расстояние: $df=9$, $F=1,7$; $p=0,079$; слой·расстояние: $df=9$; $F=0,1$; $p=0,999$.

Объемная фракция астроцитарных веточек вокруг грибовидных шипиков не имела отличий между слоями: $df=1$; $F=0,5$; $p=0,486$; расстояние: $df=9$; $F=5,9$; $p<0,001$; слой·расстояние: $df=9$; $F=0,2$; $p=0,984$.

Вероятно, в первом слое больший вклад в структурное взаимодействие с тонкими шипиками вносят астроцитарные веточки. Во втором слое такое взаимодействие осуществляется в большей степени за счет астроцитарных листочков, независимо от типа шипика.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦИТОКИНОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА АПОПТОЗ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*

О. О. Школа¹, В. В. Ермакова¹, М. В. Талаева², Е. В. Воронина²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *oks.shk@mail.ru*

²Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Дендритные клетки играют важную роль в функционировании иммунной системы. Они обладают в функционально зрелом состоянии высокой способностью презентировать антигены лимфоцитам и вовлечь наивные Т-лимфоциты в иммунный ответ. Одним из ключевых параметров, определяющих численность этих клеток, является срок их жизни. Его сокращение коррелирует с иммуносупрессией, тогда как искусственное продление жизни дендритных клеток приводит к развитию аутоиммунных реакций. Важнейшим фактором, ограничивающим срок жизни дендритных клеток, является запрограммированная гибель по механизму апоптоза. Целью настоящей работы явилось исследование регуляции апоптоза дендритных клеток цитокинами ИЛ-4 и ГМ-КСФ.

Предметом исследований явились культуры дендритных клеток, полученных из моноцитов периферической крови человека. Образцы крови были предоставлены ГБУЗ НО «Нижегородский областной центр крови им. Н.Я. Климовой».

Исследование цитокиновой регуляции апоптоза дендритных клеток проводили с помощью методов получения этих клеток из моноцитов *in vitro*, и оценки апоптоза с помощью окрашивания аннексином-V-FITC и красителем 7-AAD с последующей проточной цитофлуориметрией. В ходе работы было определено количество живых клеток, клеток, находящихся на ранней и поздней стадиях апоптоза, а также число клеток, погибших неапоптотическим путем. В экспериментах использовали трехсуточные культуры мононуклеарных клеток человека, получавшие различные сочетания цитокинов. Для исследования влияния цитокинов на выживаемость клеток, к выделенным моноцитам добавляли стимулирующие созревание дендритных клеток цитокины по следующей схеме: в первую лунку планшета с клетками добавляли только ИЛ-4, во вторую – ГМ-КСФ, в третью – оба цитокина. В качестве контроля использовали культуру моноцитов без добавления цитокинов. Стадии апоптоза дифференцировали благодаря использованию красителя 7AAD, который связывается с нарушенными мембранами мертвых клеток, и антителам к аннексину-5 (Ann-V-FITC), который является маркером апоптотических клеток. Таким образом, клетки на ранней стадии апоптоза связывали только Ann-V-FITC, на поздней – и Ann-V-FITC и 7AAD, некротические клетки – только 7AAD, а живые клетки не окрашивались.

На третий день культивирования количество выживших моноцитов составило 22,39% от общего числа клеток, моноцитов на ранней стадии апоптоза – 35,09%, на поздней стадии – 41,01%, погибших неапоптотическим путем – 0,26%. Среди моноцитов, к которым добавили ИЛ-4 выжило 35,26%, 23,45% было на ранней стадии апоптоза, 39,45% на поздней, а 1,85% клеток погибло неапоптотическим путем. Для моноцитов, к которым добавили ГМ-КСФ, эти значения составили: 69,07%, 4,75%, 25,70% и 0,49% соответственно. Для дендритных клеток, получивших оба цитокина – 77,00%, 4,50%, 17,69% и 0,81%.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что для успешного выживания дендритных клеток, требуется наличие обоих цитокинов, однако, ГМ-КСФ в большей степени способствует выживанию клеток, чем ИЛ-4.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕКСИКОРА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

А. В. Шумилова, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shumilowanastya@gmail.com

Основным звеном патогенеза черепно-мозговой травмы (ЧМТ) является эндогенная интоксикация, вызываемая запуском процессов липопероксидации и накоплением в крови и тканях продуктов ПОЛ, системным нарушением гомеостаза и вторичной гипоксией. Эти изменения сопровождаются снижением метаболических показателей в мозге и как следствие, влекут за собой дефекты двигательной функции и координации движений. В связи с этим актуальным является изучение нейропротекции, направленной на ограничение каскадов вторичного повреждения мозга. В настоящее время в терапии ЧМТ используется антиоксидант и антигипоксант – мексикор. Однако его действие в качестве нейропротектора исследовано мало. В связи с этим нами была поставлена цель – изучить влияние мексикора на эндогенную интоксикацию в крови и двигательную функцию крыс в посттравматическом периоде черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

Животным после моделирования ЧМТ, путем свободного падения груза, в течение 10 дней ежедневно внутрибрюшинно вводили мексикор (8 мг/кг), контролем служили животные, инъецированные физраствором. В работе исследовали концентрацию малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах по реакции с тиобарбитуровой кислотой, степень эндогенной интоксикации по содержанию веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) в эритроцитах и плазме крови, активность каталазы по снижению пероксида в пробе и анализировали степень выраженности моторных нарушений у крыс методом передвижения по бруску. Результаты обрабатывали статистически с помощью программ BIOSTAT и Excel.

Анализ полученных данных показал, что через 24 часа после моделирования ЧМТ наблюдалась активация процессов липопероксидации, истощение антиоксидантной системы защиты, увеличение эндогенной интоксикации, что коррелировало со снижением двигательных способностей крыс. При этом у крыс, защищенных мексикором, развитие травматической болезни проходило менее интенсивно: концентрации МДА и ВНиСММ в эритроцитах и плазме крови с 3 суток наблюдения значимо снижались относительно показателей контрольной группы, а к 7 суткам восстановились до значений интактной группы. Уменьшение эндогенной интоксикации обусловлено повышением активности каталазы с 1 суток исследования относительно контрольной группы. Положительные сдвиги показателей крови сочетались с результатами теста «метод передвижения по бруску». Так, на 3 сутки исследования у животных опытной группы было выявлено практически полное восстановление двигательной активности до уровня физиологической нормы, что выражалось в сокращении частоты соскальзывания лап и времени, затрачиваемого на передвижение по бруску.

Таким образом, накопление токсических веществ экзогенной и эндогенной природы после травмы, является толчком к развитию нарушений функционально-адаптационных механизмов эритроцитов и всего организма в целом, развитию обменных нарушений на клеточном уровне, нарушениям гемодинамики, ферментативным и гуморальным изменениям. Мексикор, благодаря своим антирадикальным и антиоксидантным свойствам оказывает стабилизирующее воздействие на мембраны эритроцитов, тем самым восстанавливает их функциональную активность, что вызывает улучшение кислородтранспортной функции крови, уменьшение повреждения клеток, находившихся в условиях хронической церебральной гипоксии и недостаточности антиоксидантной защиты, что, вероятно, предотвращает нарушения двигательной активности и нервной системы в целом.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИНА НА ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ЦИСПЛАТИН IN VITRO

К. М. Шукина¹, А. С. Неруи², А. Г. Орлова²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ksushaschukina1995@yandex.ru

²Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Цисплатин – это цитотоксический препарат на основе комплекса платины, используемый в клинической практике для лечения широкого ряда злокачественных новообразований. Наряду с прямым повреждением ДНК данный препарат вызывает повышение уровня активных форм кислорода (АФК), значительно повышающих его цитотоксический эффект. Изучив участие конкретных форм АФК в механизме действия препарата можно разработать более безопасные и эффективные средства в борьбе с онкозаболеваниями.

В работе было проведено исследование влияния ловушки АФК на содержание пероксида водорода (H_2O_2) и цитотоксичность цисплатина. Работа проводилась с использованием линии клеток HeLa Kyoto, трансфицированной флуоресцентным сенсором H_2O_2 HyPer2. Клетки высаживались на 12-луночные планшеты в количестве 100 тысяч клеток на лунку за сутки до эксперимента, затем клетки подвергались воздействию 5 мг/мл цисплатина в присутствии или отсутствии N-ацетил-L-цистеином (НАС) (5 мМ), кроме того, окрашивали клетки, не подвергающиеся воздействию ни цисплатина, ни НАС. Исследование цитотоксичности проводилось с использованием методов окрашивания трипановым синим и проточной цитометрии. Трипановый синий (0,4%) – витальный краситель – добавлялся к клеточной суспензии в соотношении 1:1. Затем на камере Горяева производился подсчет окрашенных и неокрашенных клеток. Для анализа путей клеточной гибели методом проточной цитометрии проводилось окрашивание клеток с detection kit I (BD Biosciences, США), маркером апоптоза Аннексином V, конъюгированным с фикоэритрином (PE) и витальным красителем 7-амино-актиномицином D (7-AAD). Одновременно для каждой клетки регистрировалась интенсивность флуоресценции сенсоров; анализ отклика сенсоров проводился отдельно для популяций жизнеспособных и апоптотических клеток.

Результаты окрашивания трипановым синим продемонстрировали, что цисплатин индуцирует снижение процента жизнеспособных клеток, а НАС уменьшает данный эффект, что демонстрирует участие АФК в процессе цисплатин-индуцированной клеточной гибели. Проточная цитометрия показала, что обработанные цисплатином клетки гибнут по пути апоптоза, а присутствие НАС в инкубационной среде с цисплатином предотвращает клеточную гибель. Цисплатин индуцирует повышение содержания H_2O_2 как в популяции живых, так и апоптотических клеток. При этом добавление НАС снижает содержание H_2O_2 по сравнению с подвергнутыми химиотерапии, но необработанными НАС клетками.

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что инкубация с ловушкой АФК N-ацетил-L-цистеином снижает цитотоксические эффекты цисплатина на фоне уменьшения концентрации H_2O_2 .

МЕТОДЫ РАСПОЗНАВАНИЯ И АНАЛИЗА ЛИЦЕВОЙ АСИММЕТРИИ

П. А. Юдин, Д. С. Мартынов, Д. В. Жевнерчук

Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева,
603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24; *paveljudin297@gmail.com*

Лицевая асимметрия – это частный случай нарушения симметрии человеческого тела, выраженная в отличиях в размерах и форме левой и правой половины лица. Лицевая асимметрия может быть вызвана врожденными или приобретенными свойствами организма, в ряде случаев она может иметь неврологическую, стоматологическую и травматическую природу. Выявление и классификация лицевой асимметрии позволяет назначить своевременное лечение и избежать негативных последствий для организма обследуемого.

Цель работы – разработка семантической модели, позволяющей выполнять диагностику и квалификацию лицевой асимметрии обследуемого на основании анализа данных видеоряда. Проектирование и разработка программного обеспечения, выполняющего анализ данных видеоряда лица обследуемого, на предмет выявления лицевой асимметрии.

Изучены данные о природе возникновения лицевой асимметрии и методах ее классификации. Проведен анализ классов лицевой асимметрии по причине возникновения, рассмотрены как мимические, так и неврологические асимметрии. Были параметризованы симптомы асимметрии глаз, асимметрии лица, асимметрии губ и показатели физиогномики. Были изучены средства модуля OpenCV и языка программирования Python, предназначенные для выполнения процедуры анализа данных видеоряда.

Разработана семантическая сеть, позволяющая выполнять классификацию лицевой асимметрии по ряду внешних признаков. Систематизированы и формализованы данные анализа статической и динамической лицевой асимметрии. Разработан рабочий прототип программной системы, предназначенной для автоматизированной обработки данных видеоряда лица обследуемого. Показана возможность разработки специального программного обеспечения (ПО) для выполнения автоматизированного распознавания данных видеоряда на предмет выявления лицевой асимметрии и ее классификации. Выбрана программно-аппаратная платформа для создания мобильной версии ПО.

Своевременное выявление и классификация лицевой асимметрии позволит более точно выявить причины возникновения патологии и повысить результативность лечения. Использование мобильной версии ПО обеспечит доступность процедуры диагностики лицевой асимметрии.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ ВИРУЛЕНТНЫХ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *MORGANELLA MORGANII*

Ю. С. Юдина, Л. Ф. Миннуллина, З. С. Тошева, А. М. Марданова, Д. Р. Яруллина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра микробиологии, 4200008 Казань, ул. Кремлевская, 18;
yjane2@bk.ru

Лактобациллы широко применяются в составе пищевых продуктов и пробиотических препаратов, способных нормализовать кишечную микрофлору человека. Лечебный эффект препаратов, содержащих лактобациллы, в значительной степени базируется на их антагонистическом действии против патогенных микроорганизмов. Спектр мишеней антимикробной активности лактобацилл очень широк и включает различные энтеробактерии (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Citrobacter*), однако до сих пор не описаны лактобациллы, эффективно подавляющие бактерии *Morganella morganii*. Целью данной работы является оценка антагонистической активности лактобацилл в отношении клинических изолятов *Morganella morganii*.

В работе использовали 12 штаммов лактобацилл, выделенных нами из растительного сырья, образцов кишечника и фекалий людей. С помощью MALDI Biotyper установлена их принадлежность к видам *Lactobacillus fermentum* (6 штаммов), *L. plantarum* (2 штамма), *L. salivarius* (2 штамма) и *L. rhamnosus* (2 штамма). У трех клинических изолятов *M. morganii* диско-диффузионным методом определили уровень устойчивости к антибиотикам 8 различных классов. Все исследованные штаммы обладали резистентностью к ампициллину, цефазолину, азитромицину, доксициклину и нитрофуронтоину, поэтому отнесены нами к мультirezистентным. У *M. morganii* 4 обнаружена также устойчивость к цефтазидиму и цефотаксиму. Для оценки антагонистической активности лактобацилл использовали метод «пятна на агаре». Среди исследованных лактобацилл штамм *L. fermentum* FCa8L из растительного сырья обладал наибольшим антагонистическим действием против *M. morganii*, а два кишечных изолята лактобацилл были не способны подавлять рост тест-микроорганизмов. Подобно другим пробиотическим свойствам лактобацилл, антагонистическая активность в отношении *M. morganii* была штаммоспецифичной. Наибольшую чувствительность к антимикробному действию лактобацилл проявлял штамм *M. morganii* 190. Ко-агрегацию с клетками патогенных бактерий рассматривают как один из механизмов реализации лактобациллами своего защитного действия в составе нормальной микрофлоры. Чтобы выяснить природу выявленного антимикробного действия лактобацилл в отношении *M. morganii* 190, мы исследовали ко-агрегацию между клетками этих двух микроорганизмов. Отметим, что все исследованные лактобациллы обладали высокой авто-агрегацией в диапазоне от $30,4 \pm 6,5$ до $58,7 \pm 7,9\%$ через 4 ч. инкубирования, которая увеличивалась с течением времени инкубирования. Бактерии *M. morganii* 190 тоже имели высокую авто-агрегацию $54,9 \pm 1,9\%$ спустя 4 ч. и $82,2 \pm 6,6\%$ спустя 24 ч., что указывает на их высокую колонизирующую активность. Клетки всех исследованных лактобацилл ко-агрегировали с бактериями *M. morganii* 190 (от $5,0 \pm 0,6$ до $29,2 \pm 2,5\%$ через 4 ч.), следовательно, наряду с обнаруженным ранее бактерицидным/бактериостатическим действием в отношении *M. morganii* 190, обладают способностью сдерживать распространение этих условно патогенных бактерий в организме.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 17-00-00456 в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ

А. В. Юдинцев¹, А. Б. Костюк¹, А. Д. Воротнов¹, Л. Лианг³, А. В. Звягин¹⁻³

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ayudintsev@mail.ru

²Сеченовский университет, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8

³Университет Маккуори, 2109, Австралия, Сидней, Балаклава-роуд

Метод флуоресцентной корреляционной спектроскопии (ФКС) основан на возбуждении малого объема внутри образца и регистрации фотолюминесценции (ФЛ) исходящей от флуоресцентных молекул или наночастиц (НЧ), диффундирующих через него. При прохождении через данный объем НЧ поглощают возбуждающее излучение и испускают ФЛ, которая записывается во временную последовательность. На основе полученных данных рассчитываются автокорреляционные кривые, аппроксимация которых позволяет определить гидродинамический диаметр НЧ.

Одним из применений метода ФКС является исследование физико-химических свойств НЧ в биологических средах, которые изменяются в результате адсорбции белков на поверхности НЧ (образования белковой короны). Данный процесс приводит к увеличению гидродинамического диаметра НЧ, что отражается в более длительном времени диффузии и сдвиге спада автокорреляционных кривых в область больших времен.

В данной работе для проведения исследований методом ФКС были использованы антистоксовые нанофосфоры (НАФ) состава NaYF_4 , легированные ионами иттербия Yb^{3+} (20%) и тулия Tm^{3+} (8%), со средним размером нанокристаллов $28,1 \pm 2,2$ нм. Для придания НАФ:Тм коллоидной стабильности в водных растворах их поверхность была покрыта полиэтиленгликолем. Для регистрации образования белковой короны к 50 мкл водного раствора НАФ:Тм с концентрацией 1 мг/мл добавлялось 50 мкл 10 % раствора фетальной бычьей сыворотки (ФБС). В качестве контрольного образца выступал водный раствор НАФ:Тм объемом 100 мкл с концентрацией 0,5 мг/мл.

Показано, что для определения гидродинамического диаметра НАФ:Тм необходима калибровка наблюдаемого в ФКС объема, который зависит от мощности и длины волны возбуждающего излучения, а также оптического диапазона регистрации ФЛ НАФ:Тм. Наименьший возбуждаемый объем был достигнут при малых мощностях накачки 0,6-0,8 мВт и при регистрации в ФЛ НАФ:Тм в оптическом диапазоне 446-486 нм. При этом наибольший счет фотонов при регистрации ФЛ достигается при возбуждении НАФ:Тм в диапазоне 970-980 нм.

Таким образом, выбор концентрации НАФ:Тм зависит от параметров возбуждения и регистрации ФЛ НАФ:Тм, что отражается на размере возбуждаемого объема для заданных параметров.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-34-00723).

***IN VIVO* ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ ИМИДЖИНГ НА УРОВНЕ ЦЕЛОГО ОРГАНИЗМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ**

***Д. В. Южакова*¹, *К. О. Серебровская*^{2, 1}, *И. Н. Дружкова*¹, *С. А. Лермонтова*³,
А. И. Гаврина^{1, 4}, *М. В. Ширманова*¹**

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *yuzhakova-diana@mail.ru*

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

³Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

⁴Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Флуоресцентный имиджинг на уровне целого организма представляет собой перспективный метод в области экспериментальной онкологии, дающий уникальную возможность учитывать специфику взаимодействия опухоли и организма. Целью данной работы было исследование новых противоопухолевых агентов с использованием *in vivo* флуоресцентного имиджинга на уровне целого организма. Объектом исследования служили иммунокомпетентные мыши линии Balb/c с подкожно привитой колоректальной аденокарциномой СТ26.

В ходе работы проводили *in vivo* и *ex vivo* флуоресцентный имиджинг, оценку прививаемости и скорости роста опухолей. Было проведено исследование фармакокинетики и фототоксичности двух новых флуоресцирующих порфиразиновых комплексов гадолиния для флуоресцентной диагностики и ФДТ опухолей. Установлено, что комплексы избирательно накапливаются в опухоли, что выражается в более высокой интенсивности флуоресценции в зоне опухоли по сравнению с нормальными тканями. Один из комплексов не обнаруживает значительного фотовыгорания или влияния на рост опухоли, тогда как ФДТ с другим агентом приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции и умеренному торможению роста опухоли.

При исследовании терапевтического эффекта нового агента для иммунотерапии опухолей – лиганда рецептора OX40 (OX40L), цитокина семейства факторов некроза опухоли, коэкспрессия OX40L и зелёного флуоресцентного белка EGFP в раковых клетках позволяла с помощью флуоресцентного имиджинга осуществлять мониторинг опухолевого роста и регрессии, и прижизненно контролировать экспрессию OX40L. Показано, что экспрессия нового внеклеточного домена OX40L приводит к регрессии опухолей, устойчивости к формированию спонтанных метастазов и развитию иммунологической памяти.

Была изучена противоопухолевая эффективность генетически-кодируемого фототоксичного красного флуоресцентного белка KillerRed как фотодинамического и иммуномодулирующего агента. Проведено сравнение непрерывного и импульсного режима для ФДТ опухолей, экспрессирующих KillerRed. Показано, что импульсный режим способствует достижению максимума выгорания KillerRed при меньшей световой дозе, приводит к существенным дистрофическим изменениям в опухолевых клетках и ингибированию роста опухолей. Впервые показаны иммуногенные свойства KillerRed, выражающиеся в снижении прививаемости и замедленном росте KillerRed-экспрессирующих опухолей по сравнению с немодифицированными опухолями, а также в снижении прививаемости и торможении роста повторно привитых опухолей по сравнению с исходно привитыми.

Таким образом, мы продемонстрировали, что *in vivo* флуоресцентный имиджинг на уровне целого организма позволяет решать широкий спектр биомедицинских задач, связанных с оценкой противоопухолевой эффективности новых агентов.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант № 14.W03.31.0005).

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ
ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА И ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ**

М. А. Яковлева, А. И. Самойлова, Е. В. Балавина, Т. А. Веселова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

yakovleva.mary.laeta@gmail.com

Исследование липидного спектра крови при онкологических заболеваниях имеет важное теоретическое и практическое значение. Доказано, что липиды и ферменты их метаболизма могут иметь определенное диагностическое значение при онкопатологиях. Так, показано снижение содержания лизофосфолипидов, накопление лизофосфатидной кислоты в крови пациентов с опухолями яичников, головного мозга, легкого и др. Содержание сфинголипидов и продуктов их метаболизма, а также холестерина изменяется в крови пациентов с онкологическими заболеваниями. Однако данные об изменениях липидного профиля плазмы пациентов со злокачественными образованиями достаточно противоречивы. Цель работы – исследовать содержание отдельных фракций нейтральных липидов и фосфолипидов плазмы крови пациентов с онкологическими заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Материалами исследования служила плазма крови пациентов со злокачественными опухолями желудка и кишечника. Контролем служила плазма практически здоровых доноров и пациентов с неонкологическими заболеваниями ЖКТ. В работе проанализировано 45 образцов крови, стабилизированной ЭДТА-КЕ (ПОМЦ). Липиды плазмы экстрагировали методом Фолча с модификациями, фракционировали в тонком слое с использованием двух систем растворителей: хлороформ – метанол – вода – н-гептан (65:25:4:9) для разделения фосфолипидов и н-гептан – диэтиловый эфир – уксусная кислота (95:4:1) для разделения нейтральных липидов. Относительное содержание отдельных фракций липидов оценивали с помощью программы ONE-DSCAN Version 1.3.

В плазме крови пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта по сравнению с практически здоровыми донорами показано снижение содержания фосфолипидов и накопление нейтральных липидов, высокий уровень нейтральных липидов обусловлен в основном повышением содержания холестерина и его эфиров. Наиболее выраженное увеличение содержания эфиров холестерина показано для плазмы пациентов с онкологическими заболеваниями ЖКТ.

Характерным отличием фосфолипидного профиля плазмы пациентов со злокачественными новообразованиями желудка и кишечника является значительное снижение относительного содержания лизофосфатидилхолина, как по сравнению с практически здоровыми донорами, так и пациентами с заболеваниями ЖКТ неонкологического генеза. Другие перестройки фосфолипидного профиля плазмы, в частности, снижение содержания сфингомиелина по сравнению с таковым у практически здоровых доноров, наблюдались при различных заболеваниях ЖКТ.

Результаты об изменениях содержания лизофосфолипидов и холестерина в плазме пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта представляют несомненный интерес для клинической лабораторной диагностики. Актуальны исследования возможных молекулярных механизмов липидных перестроек плазмы.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МОРФОЛОГИИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ГИППОКАМПА ЭМБРИОНОВ МЫШИ ЛИНИИ 5xFAD ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Р. С. Ярков, В. Г. Круть, С. А. Тутукова, Т. А. Мищенко, М. В. Ведунова, А. А. Бабаев, Е. В. Митрошина

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Болезнь Альцгеймера (БА) одно из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний. Это заболевание занимает четвертое место в списке причин смертности населения, а по признакам экономического ущерба – третье. Поэтому изучение молекулярных механизмов протекания заболевания, а также поиск методов предотвращения или торможения болезни является безусловно актуальным. Цель работы – исследовать особенности морфологии и кальциевой активности клеток гиппокампа мыши при моделировании болезни Альцгеймера.

Исследования проводились на первичных культурах гиппокампа эмбрионов мыши линии 5xFAD, были использованы эмбрионы дикого и мутантного типов, по генам APP и PSEN1. Из мозга эмбрионов выделяли гиппокамп и помещали его в питательную среду (NBM0) и помещали в термощейкер при температуре 37 °C и 750 rpm, для параллельного проведения генотипирования. Для проведения генотипирования использовались полушария, ствол и мозжечок головного мозга. Из материала выделяли ДНК, затем производилась наработка генов APP и PSEN1 с помощью амплификатора BIORADC1000 TouchThermalCycler. Учет результатов проводился с помощью электрофореза. В дальнейшем получение культур проходило по стандартному протоколу. На 10, 14 и 21 день культивирования *in vitro* (DIV) проводилось исследование спонтанной кальциевой активности. Для имиджинговых исследований функциональной активности культур использовался кальций-чувствительный краситель Oregon Green 488 и лазерный сканирующий микроскоп LSM 510 (Zeiss, Германия). Проводили регистрацию временной серии изображений для оценки динамики измерения концентрации внутриклеточного кальция. Для обработки данных использовалась программное обеспечение «Astroscanner» (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2014662670).

Показано, что культуры, полученные от мышей, мутантных по генам APP и PSEN1, и от мышей дикого типа не имеют значительных морфологических отличий. Жизнеспособность клеток в культурах также достоверно не отличалась. Для оценки функциональной активности первичных клеточных культур было проведено исследование кальциевой активности. На 10 DIV («Контроль» 76±7,06% и «5xFAD» 41±8,63%) и 21 DIV («Контроль» 78±10,02% и «5xFAD» 44±7,02%) процент клеток, проявляющих кальциевую активность, в культурах, полученных от мышей 5XFAD достоверно ниже, чем в контрольных. На 14 DIV достоверных различий не зарегистрировано («Контроль» 88±4,38% и «5xFAD» 60±10,12%). Частота кальциевых осцилляций на 10 DIV и 21 DIV день достоверно ниже у группы «5xFAD» (10 DIV – «Контроль» 1,5±0,058, «5xFAD» 0,52±0,02 осц./мин., 21 «Контроль» DIV 0,95±0,05, «5xFAD» 0,59±0,02 осц./мин). На 14 день достоверных отличий между группами не выявлено. Длительность осцилляций при моделировании БА достоверно повышена на 10 и 21 DIV.

Морфологически культуры дикого и мутантного типов не отличались. Выявлено, что в культурах гиппокампа мутантных мышей линии 5xFAD функциональная активность клеток значительно ниже по сравнению с культурами гиппокампа мышей той же линии дикого типа.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 18-015-00391а, № 17-04-01128а), гранта Президента РФ МД-2634.2017.4, а также при поддержке государственного задания (проекты 17.3335.2017/4.6 и 6.6379.2017/8.9).

THE ANTIMICROBIAL EFFICACY OF THE ETHANOLIC LEAF EXTRACT OF *FICUS PUMILA* (MORACEAE) AGAINST BACTERIAL FISH PATHOGENS

*H. Tkachenko*¹, *L. Buyun*², *O. Kasiyan*³, *E. Terech-Majewska*⁴, *Z. Osadowski*¹

¹Pomeranian University in Slupsk, Poland; Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland; *tkachenko@apsl.edu.pl*

²M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

³University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland;

⁴Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Infectious diseases in aquaculture are of major concern to the industry and are typically controlled by eradication of the pathogen, treatment with antibiotic or chemotherapeutics (Chinabut & Puttinaowarat, 2005). Many plants were shown to have potential for being effective herbal drugs against the fish and other aquaculture pathogens (Ramudu & Dash, 2013). Therefore, use of natural products has been considered as an alternative to antibiotics in fish health management to control bacterial infections in aquaculture. Additionally, it is an attractive method for increasing the protective capabilities of fish (Pachanawan et al., 2008). One of the potential plants that can be used as antimicrobial to enhance survival and immune competence is *Ficus* genus plants. The genus *Ficus* (Moraceae), one of the most species-rich and ecologically important plant genera in lowland tropical rainforests, was chosen for evaluation of antimicrobial activity, in particular, of leaf extracts.

The aim of this study was to test the efficacy of ethanolic extract prepared from leaves of *Ficus pumila* against fish pathogens, *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Yersinia ruckeri*, all of which have global significance and an increasing number of which are multidrug resistant (MDR), in order to evaluate the possible use of this plant in preventing infections caused by these bacteria in aquaculture. The antimicrobial susceptibility testing was done on Muller-Hinton agar by disc diffusion method (Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility technique). Muller-Hinton agar plates were inoculated with 200 and 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium and spread with sterile swabs. *A. hydrophila* (strain E 2/7/15) isolated locally from gills and *P. fluorescens* (strain E 1/7/15) isolated locally from internal organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with clinical features of furunculosis, while *C. freundii* isolated locally from gills of eel (*Anguilla anguilla*) with clinical features of disease, as well as *Y. ruckeri* collected from clinically healthy fish and fish with clinical symptoms of yersiniosis were used as test organisms.

In our study, the *A. hydrophila* and *C. freundii* strain (200 and 400 µl of standardized inoculum) revealed intermediate susceptibility to ethanolic extract obtained from leaves of *F. pumila* (inhibition zone diameters ranged from 10 to 11 mm). Ethanolic extract derived from *F. pumila* leaves exhibited the highest antibacterial activity against *P. fluorescens* causing a zone of inhibition, comprising at least 13–14 mm for 200 µL and 9–10 mm for 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium strain. *Y. ruckeri* isolate (200 and 400 µl of standardized inoculum) revealed high susceptibility to ethanolic extract obtained from leaves of *F. pumila* (inhibition zone diameters ranged between 12 and 14 mm). Further studies aimed at the isolation and identification of active substances from the ethanolic extracts obtained from leaves of *F. pumila* could also disclose compounds with better therapeutic value. It is believed that screening of plants from *Ficus* genus for other biological activities including antimicrobial activity is essential. Finally, it seems important not only to determine the substances involved in the activity against pathogens but also to establish the induced response in the fish physiology.

This study was carried out during Olha Kasiyan's Scholarship Program supported by The International Visegrad Fund in the Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk (Poland). We thank to The International Visegrad Fund for the supporting our study.

AEROBIC AND ANAEROBIC BIOMARKERS IN VARIOUS TISSUES OF GRAYLING (*THYMALLUS THYMALLUS*) AFTER CHLORAMINE-T DISINFECTION

*H. Tkachenko*¹, *J. Grudniewska*²

¹Pomeranian University in Slupsk, Poland; Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland; *tkachenko@apsl.edu.pl*

²Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute, 83-330 Żukowo, Poland

In aquaculture, Chloramine-T as a therapeutic agent, it is used as an effective treatment of bacterial gill disease in freshwater or marine aquaria, garden ponds, or other aquatic systems at concentrations ranging from 6,5 to 10,0 mg/L [23,1 to 35,5 μ M] and as a preventative, prophylactic, and disinfectant treatment in many fresh water hatcheries. It is effective for the control of proliferative and bacterial gill disease as well as flexibacteriosis in freshwater, and more recently attention has turned to its use in seawater. In this study, we have tested use of Chloramine-T in dose 9 mg per L in disinfective procedures in the grayling (*Thymallus thymallus*). To observe the effects of Chloramine-T at the therapeutic concentration, grayling, which is one of the most important salmonids in human diet was studied. Further, the aim was to evaluate the safety of this disinfective product (recently has been attracting researchers' attention for use in aquatic animals) for fish health using markers of aerobic and anaerobic capacity in the gills, muscle, hepatic, and cardiac tissues of grayling. The alanine (ALT) and aspartate aminotransferases (AST), lactate dehydrogenase (LDH) activity, lactate and pyruvate levels were assessed in various tissues of grayling exposed to Chloramine-T and compared to untreated control.

In the present study, ALT activity after exposition of Chloramine-T was significantly decreased by 10% ($p=0,005$) in the cardiac tissue of the fishes when compared to control value. Muscle and gill tissues also showed similar results as in cardiac tissue such as decrease of ALT activity by 18% and 6,4% ($p>0,05$), respectively. In case of hepatic tissue, ALT activity was non-significantly increased compared to control. The results clearly depicted that ALT activity was raised lowly in the cardiac tissue of grayling, but this decreased activity was not tissue specific. AST activity was increased significantly in the hepatic tissue by 19% ($p=0,007$) but decreased in the cardiac tissue by 16,7% ($p=0,002$) as compared to control value during Chloramine-T disinfection. AST activity in the muscle tissue and gills after Chloramine-T exposition showed usual trend of decreased as compared to control value. In the present study, liver tissue showed the highest elevation of AST activity, while, in heart, the decrease of AST activity was observed. In case of muscle and gill tissues, non-statistically decreased AST activity was 20% and 7%, respectively. Considering all the tissues, here, the increase of AST activity was observed in the liver (by 19%, $p=0,007$) and the decrease in the gills, muscle and cardiac tissues under Chloramine-T exposure. The study also showed that hepatic and cardiac tissues were more sensitive to the changes than gills and muscle tissue. In the muscle tissue of untreated grayling, pyruvate level correlated positively with ALT ($r=0,639$, $p=0,047$) and AST ($r=0,741$, $p=0,014$). In the cardiac tissue of untreated grayling, pyruvate level correlated positively with ALT ($r=0,869$, $p=0,001$) and AST ($r=0,724$, $p=0,018$). In these tissues, pyruvate as substrate for transaminase reactions caused to activate ALT and AST activity for improve of protein and carbohydrate metabolism. In the muscle tissue of grayling disinfected by Chloramine-T, ALT correlated positively with AST ($r=0,927$, $p=0,000$) and LDH ($r=0,903$, $p=0,000$). The enhancement in the lactate level due to Chloramine-T disinfection was observed in the muscle tissue of grayling. The increased lactate level indicated increase anaerobic pathway in the muscle tissue, while aerobic metabolism was activated in the hepatic tissue. Further, aminoacids based aminotransferases activation seems to be increased, as evidenced by the raised AST activity and increase level of pyruvate. Recovery of the aerobic metabolism in the gills and cardiac tissue was observed after disinfective procedures with Chloramine-T. Therefore, these biochemical parameters can be considered as indicators for assessment of disinfective effects, although further studies are required for investigating the mechanism involved in this pattern.

**ANTIOXIDANT DEFENSE IN THE HEPATIC TISSUE OF RAINBOW TROUT
ONCORHYNCHUS MYKISS IMMUNIZED AGAINST *YERSINIA RUCKERI******H. Tkachenko*¹, *J. Grudniewska*², *A. Pękala-Safińska*³**¹Pomeranian University in Slupsk, Poland; Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland;
*tkachenko@apsl.edu.pl*²Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute, 83-330 Żukowo, Poland³National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland

The enteric redmouth (ERM) disease, or Yersiniosis, caused by an ubiquitous pathogen *Yersinia ruckeri*, is traditionally associated with rainbow trout. ERM has been controlled successfully using immersion-applied bacterin vaccines for several decades. Response of oxidative stress biomarkers in different tissues of fish is dependent of immune system activation and reactive oxygen species (ROS) generation due to respiratory burst in response to microbe recognition induced by vaccination. Considering the extensive use of vaccination against *Y. ruckeri*, it would be valuable to assess the oxidative stress biomarkers in different tissues of immunized fish. Thus, the present study aimed to investigate the effects of immunization against *Y. ruckeri*. The lipid peroxidation (2-thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) and protein oxidation biomarkers [aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins (OMP)] as well as antioxidant defenses [superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx) activities, total antioxidant capacity (TAC)] in trout immunized against *Y. ruckeri* after two months of the finish of oral vaccination were assessed.

Clinically healthy rainbow trout with a mean body mass of $107,9 \pm 3,1$ g were used in the experiments. The experiments were performed in water at $14,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ and pH 7,2-7,4. The fish were divided into two groups: untreated control and immunized against ERM. The vaccine against ERM (Department of Fish Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland) contained three inactivated *Y. ruckeri* strains originating from rainbow trout cultured at different farms, in which fish were exhibiting clinical signs of ERM. The bacteria isolates belonged to O1 serotype and showed some differences in their biochemical properties. Concentrated vaccine was enclosed by fish feed and was administered three times every other day. Fifteen rainbow trout from each group were euthanized 60 d after the finish of vaccination, and then hepatic tissue samples were collected.

The findings described in the present study allow the conclusion that immunization by anti-*Yersinia* vaccine decrease the oxidative stress biomarkers in the hepatic tissue compared to a unhandled control at second months after immunization. We also have shown that glutathione reductase and glutathione peroxidase makes it possible to avoid the cellular lesions that cause anti-*Yersinia* vaccine. Correlative analysis between oxidative stress biomarkers and GR activity in vaccinated fish confirm our conclusions. Catalase activity can be decreased by negative feedback from excess of substrate or damage by oxidative modification. In contrary, an increase of GPx activity could indicate that total antioxidant capacity was also induced in the hepatic tissue of immunized trout. From a broader perspective, it is suggested that immunization of fish by anti-*Yersinia* vaccine is associated with induced antioxidant defenses against free radical formation and oxidative stress caused by vaccination. We suggest, that adaptation of antioxidant defenses induced by immunization would partially responsible for decrease of oxidative stress biomarkers (TBARS and aldehydic derivatives of OMP) in the hepatic tissue of vaccinated fish. Duration of this adaptive mechanisms resulted in TAC increase. High level of TAC in hepatic tissue resulted in decrease of aldehydic and ketonic derivatives of OMP. Understanding the role of oxidative stress in the tissues of vaccinated trout has important implications for understanding of the complex physiological changes that occur in immunization but also for improving aquaculture practices to maximize tissues growth and health of vaccinated trout. The oxidative stress biomarkers, i.e. content of oxidative protein damage, as well as antioxidant defenses were sensitive to vaccination of trout against *Y. ruckeri* and may potentially be used as biomarkers in evaluating vaccine toxicity in rainbow trout.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абделаиз В. М. А.	12	Беляева К. Л.	37
Абдуллина Р. Х.	13	Березина Е. В.	128, 163
Абдулхаков С. Р.	123	Берестова Е. В.	38
Авдеева П. И.	14	Билова Т. Е.	33
Агабекян И. А.	125, 195	Блинова Е. В.	39
Агеева М. Н.	15, 32, 180	Бобков А. В.	40
Аглиуллина Д. Р.	245	Большакова Е. В.	41, 95
Акафьева Д. В.	55	Бондарев О. О.	104
Акинчиц Е. К.	129	Брагазин А. А.	243
Александрова А. Ю.	16	Брилкина А. А.	15, 156, 179, 180, 182, 203
Алексеева Е. А.	17	Бронникова И. И.	42
Альзеибак Р.	79, 246	Булыгина Е. А.	187
Алябышева Е. А.	18, 171	Бурханова Г. Ф.	43
Алябышева Ю. С.	18	Важдаева Е. В.	41, 44
Ананьева Ю. Е.	188	Вазетдинова А. А.	45, 186
Андреев С. М.	121	Валеева Г. Р.	167
Андреева А. Ю.	19, 116	Валеева Л. Р.	125, 195
Аникина Н. А.	20	Варганова И. А.	46
Анисимова Е. А.	21	Васенин С. А.	226
Антипова О. О.	22, 105	Василенко Е. А.	41, 44, 47, 92, 95
Аптуллина А. Д.	23	Васильчиков П. И.	48, 232, 242
Арзамасцева А. А.	24	Ведерников А. А.	49, 194, 208
Арсланова А. Н.	189	Ведунова М. В.	27, 54, 117, 137, 230, 231, 257
Архипова Е. В.	25	Веселов А. П.	15, 205
Архипова С. С.	17	Веселова Т. А.	96, 219, 256
Астафьева К. А.	26	Викулов Е. Н.	141
Астраханова Т. А.	27, 230	Викулова А. С.	20
Астраханцева И. В.	41, 44, 47, 92, 95	Викулова Е. Н.	36
Атряхайлова Т. А.	28	Вирченко А. Е.	50
Аферова С. И.	27	Вишняков И. В.	124
Афоница Ю. И.	29	Вишняков И. Е.	241
Ахмадуллина Э. Б.	30	Власова К. М.	51
Ахметшина Д. Р.	167	Власова Н. А.	52
Бабаев А. А.	58, 114, 191, 229, 257	Воденеев В. А.	15, 69, 74, 128, 129, 161, 213, 216, 220, 237, 246
Бабынин Э. В.	153	Воденеева Е. Л.	210
Балабанов П. А.	83	Волкова А. С.	24
Балавина Е. В.	256	Воловецкий А. Б.	74, 107, 182, 204, 216
Балалаева И. В.	66, 74, 107, 115, 126, 158, 179, 182, 184, 203, 204, 216, 246	Вологин С. Г.	140
Балашова А. Н.	86, 178	Волошина А. Д.	153
Балеев М. С.	31	Воронина Е. В.	82, 249
Балтина Т. В.	164	Воронина Л. А.	53
Балькова М. В.	32	Воронова Н. В.	54
Банкин М. П.	33	Воронцов А. Ю.	176
Баранова А. В.	34	Воронцов Д. А.	176
Барбашова Л. Н.	35	Воронцова А. А.	55
Баринцов Р. О.	36	Воротнов А. Д.	56, 110, 254
Баркин В. В.	62, 138	Воскресенская О. Л.	217
Бармина Е. В.	94	Гаврилко Д. Е.	93, 190
Бекмансуров М. В.	85	Гаврилов Н. И.	248
Белова И. В.	65	Гаврилова А. А.	159
Белослудцев К. Н.	77, 109, 218, 224	Гаврилова В. А.	33
Белослудцева Н. В.	218	Гаврина А. И.	57, 91, 255
Белоусова И. И.	120, 191	Гавриш М. С.	58, 229
Беляев Д. В.	15	Гажеева Т. П.	201

Гайнуллин М. Р.	146, 178	Егорихина М. Н.	42, 165
Гаранина Е. Е.	174	Елагин В. В.	239
Гарипов М. Р.	196	Елисеева Т. И.	102
Гарипова Л. И.	59	Емелина Ю. А.	81
Гаязова Э. И.	233	Епифанова Е. А.	58, 114, 229
Герасимова Е. В.	43	Ермакова В. В.	82, 249
Герасимова Т. С.	60	Ермолаев С. А.	127
Гилязиева З. Е.	17	Ермошин А. А.	83, 168, 209, 228
Гильмутдинова Л. Р.	61	Жевнерчук Д. В.	252
Гладков А. А.	22, 105	Жидкова Н. М.	191
Гладкова Н. Д.	31, 176	Жилина Д. К.	43
Глухова О. В.	62	Жихарев В. С.	84
Глявина М. М.	63	Жуков И. Ю.	146
Гомзикова М. О.	174	Журавлева З. Д.	155
Горбунова А. С.	64	Жученко М. А.	63
Гордлеева С. Ю.	68, 197	Заболотских Л. А.	85
Горев Д. А.	65	Заборская О. Г.	86
Горохова А. А.	66, 179	Заботин Я. И.	87
Горшкова А. Д.	67	Забурдаев В. Ю.	99, 112, 236
Горшкова Е. Н.	41, 44, 47, 92, 95	Загайнова Е. В.	35, 247
Григорьев Н. А.	68, 197	Заздравная М. А.	88
Григорьева Т. В.	24, 187	Заикин А. А.	145
Гринберг М. А.	69	Заиченко И. Е.	82
Громова Е. Н.	69, 70	Закамская Е. С.	170
Груздева Е. В.	71	Закамский А. В.	89
Губарькова Е. В.	176, 239	Залепкина С. А.	90
Гудков С. В.	69, 94	Захарова О. А.	188
Гуридов А. А.	172	Звягин А. В.	56, 110, 204, 213, 246, 254
Гурьев Е. Л.	56, 126, 158, 178, 204, 213, 246	Здобнова Т. А.	15, 180
Данилушкина А. А.	72	Зеленова Е. Е.	57, 91
Данилюк А. В.	73	Земскова Е. С.	92
Деев Р. В.	245	Зиганшина А. Р.	43
Деев С. М.	126, 184, 213	Зиганшина Э. Э.	24
Дембицкая Ю. В.	75	Злобовская О. А.	57
Денисенко Т. Е.	119	Золотарева Т. В.	93
Денисов С. В.	112	Зубкова О. В.	73
Дерюгина А. В.	53, 88, 151, 207, 250	Иванов В. Е.	94
Джаруллаева К. Р.	74	Иванов К. Ю.	46
Диденко Н. В.	37	Иванова И. П.	25
Домашин А. И.	172	Иванова И. Э.	111
Дорогин Д. В.	63	Иванченко М. В.	112, 145
Доронин М. С.	75	Иванюк А. А.	95
Дрангой А. В.	240	Ивлев Е. Д.	169
Дробот В. В.	162, 240	Игнатова Н. В.	139
Дробот В. И.	162, 240	Игнатова Н. И.	234
Дробот Г. П.	19, 49, 76, 116, 194, 201, 202, 208	Идрисова Г. И.	13
Дробот Н. В.	76	Изосимова А. В.	96
Другова О. В.	149	Иткина Д. Л.	97
Дружкова И. Н.	139, 255	Казанцев В. Б.	68
Дубинин М. В.	77, 109, 111, 218, 224, 238	Казанцева Д. В.	98
Дубков А. А.	236	Калинин Е. В.	127
Дубкова Е. С.	78	Калинина М. А.	219
Дубовская А. Г.	33	Калякулина А. И.	99
Дударь А. И.	37	Канцерова Л. Н.	100
Дуденкова В. В.	57, 91, 139	Каплан А. Я.	68
Дьякова Д. В.	79	Карамова Н. С.	235
Дьячкова М. С.	80	Карпов Д. С.	172

Карпухин О. Ю.	24	Курбангалиева А. Р.	175
Картуесов А. Г.	73	Курбатов Л. К.	178
Катичева Л. А.	129	Курчатова А. М.	125
Каткова Е. С.	101	Кутова О. М.	126, 158
Каюмов А. Р.	124, 175, 196, 241	Лабынцева О. М.	188
Кириллин М. Ю.	110	Лаврикова А. Я.	127
Кириллов Н. А.	61	Ладейнова М. М.	128, 129
Киселева Е. Б.	31	Лайков А. В.	187
Киселева И. С.	83, 209	Лапин В. А.	130, 152
Киселева С. В.	172	Лаптева Н. А.	131
Клапшина Л. Г.	74, 79, 107, 216	Лапшин Н. К.	132
Клементьева Н. В.	35, 234	Ларина Т. А.	133
Кожевникова А. В.	29	Латыпов Т. Х.	134
Козлов А. В.	29, 55, 154	Лебедев М. Ю.	211
Колегова Т. И.	102	Леонтьев А. В.	199
Коленов С. Е.	103	Лермонтова С. А.	74, 79, 107, 216, 255
Коломина К. Е.	104	Лианг Л.	110, 254
Колпаков В. Н.	22, 105	Линькова Д. Д.	135
Колпакова Е. А.	106	Лисина А. А.	136
Коннова С. А.	72	Лобкаева Е. П.	62, 138
Конторщикова К. Н.	34, 40, 102	Логинов П. А.	147
Коньгин К. А.	107	Логинова М. М.	137
Копылова С. В.	51	Лопаткина Н. В.	138
Корычева И. О.	108	Лу Ю.	110
Корягин А. С.	37	Лукина М. М.	139, 247
Косарева Е. А.	109	Лукоянов М. В.	68, 197
Косолапова А. С.	77	Лукьянов К. А.	5
Костенко В. В.	81, 185	Лутфуллин М. Т.	140
Костин В. А.	149	Львутина Т. В.	141
Костюк А. Б.	56, 107, 110, 179, 204, 246, 254	Любина О. С.	101
Котлов М. И.	172	Ляхова А. А.	142
Краев И. В.	248	Макаров М. В.	50
Краснощёкова О. Э.	111	Макарова А. Д.	143
Краюхина К. Ю.	62	Макарова А. Е.	144
Крестова Е. И.	211	Маковкин С. Ю.	145
Кривонососов М. И.	112	Максимова Н. С.	146
Круглов А. В.	56	Маланин С. Ю.	123
Крупнова Т. А.	113	Малашук А. Д.	147
Крутова Е. К.	67, 136	Малишевский М. Р.	148
Круть В. Г.	114, 257	Малков В. Э.	149
Крылова Е. В.	78, 100, 183	Малова А. В.	140
Крылова Л. В.	115	Мальцева А. А.	150
Крюков Л. А.	144, 156	Марданова А. М.	140, 253
Кувалдина К. А.	92	Мартусевич А. А.	151
Кудрявцева М. М.	19, 116	Мартынов Д. С.	36, 141, 252
Кузнецов С. С.	176	Медведев С. С.	6, 33
Кузнецова А. И.	117	Медведев Я. И.	46
Кузькина О. Е.	118	Мелентьев Д. А.	130, 152
Кузьмина А. С.	119	Милицкова А. Д.	164
Кузьмина Д. М.	120	Миндубаев А. З.	153
Кузьмина Н. С.	115	Минеева Л. Ю.	52, 108, 143, 225
Куимова М. К.	247	Миннуллина Л. Ф.	253
Кукс Е. И.	121	Миронов А. А.	169
Кулизин П. В.	122	Миронова Ю. И.	154
Куликов А. М.	206	Митрошина Е. В.	54, 117, 137, 230, 231, 257
Куприянова Е. А.	123	Михалев Е. В.	148
Куприянова Т. А.	124	Мищенко Т. А.	54, 117, 137, 230, 231, 257

Могутина М. А.....	155	Плеханов В. И.	216
Моисеев А. А.	176, 239	Половинкина Е. О.....	144
Моисеева И. Э.....	156	Понимаскин Е. Г.....	7
Моренова К. А.	157	Попкова Т. В.....	181
Морозов Г. С.	101	Попова О. В.	177
Морозова А. А.....	158	Поспелов А. Д.	182
Морунова С. С.	159	Прокофьева Т. А.	183
Мостякова А. А.....	13	Пужихина А. Д.	184
Мохамед Г. Р. А.....	160	Пузаткина Е. А.	28
Мохонов В. В.	41, 44, 47, 92, 95, 106	Пульнова Е. В.....	96
Мохонова Е. В.....	130, 152	Разумова М. О.	185
Мудрилов М. А.	161	Раков И. И.....	94
Мудрова К. С.	162	Ралдугина Г. Н.	15
Мусатова А. А.	163	Ратницына Д. А.....	222
Мухаметова Э. Р.	164	Рахматуллина Ф. Ф.....	45, 186
Мухина И. В. 27, 63, 86, 120, 146, 147, 149, 155, 178		Речкин А. И.	65
Мухина П. А.....	165	Ризванов А. А.....	17, 174, 244, 245
Мухранова Н. И.	166	Розенберг Г. С.	8
Нагиба В. И.	46	Розенталь С. Г.	134
Назарова М. С.	15	Розов А. В.	45, 186
Насретдинов А. Р.....	167	Романова В. А.	187
Неруш А. С.	251	Романова Е. Б.	193, 215
Неруш В. Н.....	70	Романова Ю. Д.	64
Неугодникова Е. А.....	168	Рохмистрова Е. Г.	188
Нигаматзянова Л. Р.	233	Рудич М. П.	189
Нигматуллина Л. Р.	125, 195	Ручкин Д. С.	190
Низова Т. С.	219	Рыбакова В. П.	191
Никанорова Е. А.	46	Рыжова Л. В.	192
Новиков Д. В.	47	Рябинина Е. С.....	193
Новожилов И. Л.	169	Рябков М. Г.	31
Новоселова В. А.....	16	Рябова Е. Н.	226
Новоселова И. В.....	170	Рябчикова Т. Н.	194, 208
Овчинникова Е. С.	171	Сабаева Д. Ю.....	195
Ожаровская Т. А.	73	Сабириров Р. М.....	50, 101
Орлова А. Г.	251	Сабирирова А. Э.	196
Осипов Г. В.	149	Савосенков А. В.....	68
Осипова П. Д.....	73, 172	Савосенков А. О.....	197
Осипова Т. В.	173	Садртдинова И. И.	198
Отвагин В. Ф.	115	Сайфуллин А. П.	199
Охезин Е. В.	174	Сакулин К. А.	24
Павельев Р. С.	196	Самарцев В. Н.	77, 111, 224, 238
Павлова А. С.	175	Самойлова А. И.....	96, 219, 256
Павлова Н. П.	139, 176, 239	Самсонова К. И.	147
Пайгачкина А. С.	177	Сафина Д. Д.....	123
Панкратова Е. В.....	99	Свинин А. О.	49, 194, 208, 224
Парахонский Б. В.....	74	Селиванов А. А.	200
Пасынков Д. В.....	76, 202	Семенова А. А.	201
Перенков А. Д.	48	Семенова К. А.	202
Перфилов М. М.....	234	Семенова Л. И.	201
Першин В. И.....	178	Семьянов А. В.	75, 248
Пескова Н. Н.	66, 115, 158, 179	Сенатская А. О.	203
Печёрина А. А.....	180	Сенча Л. М.....	56, 204, 246
Пигарева Я. И.....	22, 105	Сергеева А. М.....	162
Пимашкин А. С.	22, 68, 105	Сергеева Е. А.....	110
Пиотровский М. С.	132	Сергеева Т. Ф.	57, 91, 146
Плеханов А. А.....	176	Сердцева Д. В.....	80
		Серебровская К. О.	255

Середнева Я. В.	205	Тугбаева А. С.	228
Сивопляс Е. А.	206	Турмухаметова Н. В.	60, 223
Сидей К. Р.	207	Турубанова В. Д.	229
Сидушкина М. Н.	194, 208	Тутукова С. А.	58, 257
Синенко О. С.	209	Уразов М. Д.	27, 230
Синицына Ю. В.	38, 67, 136, 205	Усенко А. В.	27, 54, 230, 231
Синцов М. Ю.	167	Утукова С. В.	232, 242
Сироткина М. А.	31, 176, 239	Файзрахманова З. З.	192
Скамейкина К. О.	210	Фатыхова Э. Ф.	134
Скворцова В. В.	211	Фахруллин Р. Ф.	72, 233
Скворцова Г. А.	53	Фахруллина Г. И.	233
Скоцилова Е. А.	23, 212	Федоров А. Ю.	115
Смирнов В. Ф.	90	Филатов В. С.	134
Смирнова Н. А.	212	Фролов А. А.	33
Смоликова Г. Н.	33	Фурашова Е. В.	177
Смышляева А. С.	213, 246	Фурман О. Е.	234
Собянин К. А.	127	Хассан Г. О. О.	235
Соколова Е. А.	126, 184, 203	Хабибрахманова А. М.	175
Соловьев А. Г.	9	Хадиева Г. Ф.	140
Соловьев Д. В.	214	Хазипов Р. Н.	167
Соловьева А. Г.	37, 100	Хайбуллина С. Ф.	174, 244
Соловьева В. В.	17, 244, 245	Хайтов М. Р.	121
Соловьева И. В.	65	Харчева А. А.	236
Соломайкин Е. И.	215	Харьковская Е. Е.	149
Соломонов С. Н.	19, 116	Хиляс И. В.	64
Сороко С. С.	216	Хлопков А. Д.	222, 237
Старикова Е. А.	217	Хомутов А. Е.	214
Старинец В. С.	77, 111, 218, 224	Хорошавина Е. И.	238
Стародумова А. И.	219	Хорошавина Н. С.	177
Старостина И. Г.	245	Храмцова Е. В.	239
Сташевски З.	140	Хуснутдинова Д. Р.	24
Степанова А. Е.	224	Цыганова М. И.	130, 152
Стручкова И. В.	142, 163	Чаленко Я. М.	127
Суворова В. А.	80	Чемеков В. А.	240
Сулейманова А. Д.	97, 227	Черкасова Е. И.	182
Суринова У. А.	77	Чернова Л. С.	124, 241
Сурова Е. М.	70	Чиркунова А. А.	242
Сурова Л. М.	161, 220, 237	Чудаков Д. М.	35
Сухов В. С.	70, 220–222, 237	Чуева А. В.	243
Сухова Е. М.	70, 221, 222	Чулпанова Д. С.	17, 244
Сухорукова М. В.	223	Шаймарданова А. А.	245
Сысолятина Е. В.	127	Шакиров Е. В.	125, 195
Тазетдинова Л. Г.	17	Шакирова В. Г.	174
Талаев В. Ю.	82	Шанвар С.	204, 246
Талаева М. В.	82, 130, 152, 249	Шарагина Е. М.	104
Таланов Е. Ю.	218	Шарафутдинов И. С.	175
Тарабыкин В. С.	191	Шарипова М. Р.	97, 195, 227
Тарасов С. С.	148	Шаронов Г. В.	35
Теньков К. С.	77, 111, 218, 224	Шерстнева О. Н.	220, 237
Терентьева Е. А.	225	Шершакова Н. Н.	121
Тимофеева О. А.	13	Шилягина Н. Ю.	74, 107, 179, 203, 204, 216
Титова Н. А.	226	Шимолина Л. Е.	139, 247
Тиунова Н. В.	34	Ширманова М. В.	57, 91, 139, 247, 255
Томилин А. Н.	10	Широкова О. М.	117
Точилина А. Г.	65	Шишкина Т. В.	137
Тошева З. С.	253	Шишкова Е. А.	248
Трошагина Д. С.	227	Школа О. О.	82, 249

Шумилова А. А.	239	Яковлева М. А.	256
Шумилова А. В.	250	Яковлева О. В.	16
Шунин К. М.	36	Янкитов Н. Ю.	207
Шурганова Г. В.	84	Ярков Р. С.	257
Шурганова Е. В.	146, 190	Яруллина Д. Р.	16, 21, 24, 253
Щелчкова Н. А.	147	Яхваров Д. Г.	153
Щукина Д. А.	102	Buyun L.	258
Щукина К. М.	251	Grudniewska J.	259, 260
Юдин П. А.	252	Kasiyan O.	258
Юдина Ю. С.	253	Osadowski Z.	258
Юдинцев А. В.	15, 79, 142, 254	Pełkala-Safińska A.	260
Южакова Д. В.	35, 255	Terech-Majewska E.	258
Яковлев И. А.	245	Tkachenko H.	258–260
Яковлева А. А.	20		
Яковлева Г. Ю.	64		