



75-я всероссийская
с международным участием
школа-конференция
молодых учёных



БИОСИСТЕМЫ ОРГАНИЗАЦИЯ, ПОВЕДЕНИЕ, УПРАВЛЕНИЕ

ТЕЗИСЫ
ДОКЛАДОВ

19 - 22 апреля 2022 г.
Нижний Новгород



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

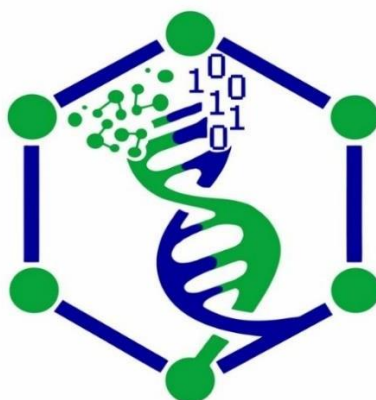
Институт биологии и биомедицины



«БИОСИСТЕМЫ: организация, поведение, управление»

75-я Всероссийская с международным участием
школа-конференция молодых ученых

*Тезисы докладов
(Нижегород, 19–22 апреля 2022 г.)*



Нижегород
2022

УДК 573.6(063); 61:004(063)

ББК Е.с21я431

Б 63

Б 63 **Биосистемы: организация, поведение, управление:** Тезисы докладов 75-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Н. Новгород, 19–22 апреля 2022 г.). Н. Новгород, Университет Лобачевского. 2022. 272 с.

ISBN 978-5-91326-735-1

Тезисы докладов 75-й школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» охватывают широкий спектр направлений современной биологии: биоразнообразие, биомониторинг и биоиндикацию, агротехнологии и физиологию растений, микробиологию, физиологию человека и животных, молекулярную биологию, нанобиотехнологии, биохимию, биофизику, биоинформатику и фундаментальную медицину. Основной целью конференции является привлечение студентов и аспирантов к исследовательской и проектной деятельности в научно-технической сфере.

Проведение школы-конференции поддержано Министерством науки и высшего образования РФ (Соглашение № 074-02-2018-330(1) от 21.05.2018 г. и Соглашение № 075-15-2020-927 от 13.11.2020 г. о создании и развитии научного центра мирового уровня "Центр фотоники")

ISBN 978-5-91326-735-1

ББК Е.с21я431

УДК 573.6(063); 61:004(063)

© Нижегородский госуниверситет
им. Н.И. Лобачевского, 2022

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

М.В. Ведунова председатель, директор ИББМ, д.б.н.
И.В. Балалаева заместитель председателя, доц., к.б.н.

А.А. Брилкина (доц., к.б.н.), В.А. Воденеев (доц., д.б.н.), А.Д. Поспелов (м.н.с.), А.С. Маслова (м.н.с.), А.А. Горохова (м.н.с), А.В. Дерюгина (доц., д.б.н.), В.А. Зрянин (к.б.н.), Е.О. Половинкина (доц., к.б.н.), Ю.В. Сеницына (к.б.н.), М.Н. Таламанова (к.б.н.), В.В. Старостенко (лаб.), М.Ю. Карпушин, Д.А. Газетов

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

М.В. Ведунова председатель, директор ИББМ, д.б.н.
В.А. Воденеев заместитель председателя, доц., д.б.н.

И.В. Балалаева (доц., к.б.н., ННГУ), С.В. Гудков (д.б.н., ИОФ РАН), С.М. Деев (д.б.н. акад. РАН), А.В. Дерюгина (доц., д.б.н., ННГУ), А.В. Звягин (д.б.н., ун-т Маккуори, Австралия), В.А. Зрянин (к.б.н., ННГУ), М.В. Иванченко (проф., д.ф.-м.н., ННГУ), В.Б. Казанцев (доц., д.ф.-м.н., ННГУ), Г.А. Кравченко (к.б.н., ННГУ), Д.В. Крысько (РНД, Гентский ун-т, Бельгия), Б.С. Мельник (д.ф.-м.н., ИБ РАН), В.В. Новиков (проф., д.б.н., ННГУ), А.Г. Охапкин (проф., д.б.н., ННГУ), Ю.В. Сеницына (к.б.н., ННГУ), К. Франчески (проф., Болонский ун-т, Италия), С.Н. Цыбусов (проф., д.м.н., ННГУ), Н.Ю. Шилягина (к.б.н., ННГУ), В.Н. Якимов (доц., д.б.н., ННГУ)

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ РАСТЕНИЙ НАНОКРЕМНИЕМ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ТКАНЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КАДМИЯ

*Г. И. Абдракова**, *Ю. В. Смирнова*

Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета,
453103, Стерлитамак, просп. Ленина, 47; *gulnara_99@mail.ru*

Мировой опыт показывает, что кремниевые удобрения занимают все более лидирующие позиции в современной земледелии. При использовании кремния улучшается усвоение сельскохозяйственными культурами азота, фосфора и калия, повышается устойчивость растений к различным стрессовым факторам среды (инфекции, засухе, засолению и др.). Поиск новых способов и средств защиты растений, в том числе содержащих кремний, способных эффективно влиять на их развитие, повышать устойчивость к стрессовым факторам, в том числе тяжелым металлам, является актуальной задачей современного растениеводства.

Известно, что под действием тяжелых металлов (ТМ) происходит угнетение роста побегов и корней растений, снижение сухой и сырой массы, нарушение процессов дыхания и фотосинтеза. Эти повреждающие эффекты ТМ, в том числе кадмия, связаны с развитием в тканях растений окислительного стресса, перекисным окислением липидов и инактивацией антиокислительных ферментов. Целью работы явилось исследование влияния обработки семян препаратом, содержащим наночастицы кремния на окислительный стресс в тканях растений *Triticum aestivum* сорта Ватан, вызванный действием ионов кадмия.

Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Семена калибровали, промывали в мыльной и дистиллированной воде, стерилизовали. Для обработки семян использовали препарат на основе наночастиц кремния с массовой долей элемента не менее 50% (рН=7,8), размером частиц 0,005–0,5 мкм. Препарат разводили дистиллированной водой в 2000 раз. 1 г семян обрабатывали 20 мкл приготовленного раствора. Семена 4–5 мин. встряхивали в круглодонной колбе с раствором препарата, подсушивали, затем использовали в экспериментах. Семена контрольных растений обрабатывали по той же схеме дистиллированной водой. Обработанные семена раскладывали по 30 шт в чашки Петри (d=15 см), которые предварительно стерилизовали вместе с фильтровальной бумагой 45 минут при 120°C. Использовали раствор $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ в концентрациях 1 и 40 мг/л. Растения выращивали 5 суток при температуре +18...20°C. Затем отбирали растительный материал для анализа. Об интенсивности окислительного стресса судили по концентрации в тканях растений продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) малонового диальдегида (МДА) согласно методу Costa с соавторами (2002). Все опыты проводили не менее чем в трёх биологических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных программ пакета Microsoft Office Excel 2007.

Показано, что в присутствии ионов кадмия в растворе происходило повышение концентрации МДА в корнях пшеницы, коррелирующее с концентрацией ТМ, что свидетельствует об усилении интенсивности процессов ПОЛ. Так, при концентрации Cd^{2+} 1 мг/л наблюдали повышение концентрации МДА на 38%, при 40 мг/л – на 50% в сравнении с контрольными проростками. В тканях побегов при низкой концентрации ионов Cd^{2+} накопления продукта ПОЛ не происходило. У растений пшеницы, семена которых были обработаны препаратом нанокремния, концентрация МДА и в побегах и в корнях была ниже, чем у необработанных: при концентрации Cd^{2+} 40 мг/л содержание МДА в корнях обработанных препаратом растений было ниже на 12%, чем у необработанных, выросших при той же концентрации ТМ, в побегах на 28%. Более низкий уровень МДА в тканях проростков, обработанных нанокремнием, говорит об менее интенсивном развитии процессов ПОЛ в сравнении с необработанными растениями.

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

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НОРАДРЕНАЛИНА НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ УРОПАТОГЕННОЙ *ESCHERICHIA COLI*

А. А. Абидуллина, Н. И. Игнатова, В. В. Елагин, О. С. Стрельцова

Приволжский исследовательский медицинский университет,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;
lina.abidullina@yandex.ru

Заболевания мочевыводящего тракта часто приобретают хроническое течение в результате колонизации мочевыводящих путей биопленочной формой уропатогенов, одним из наиболее частых возбудителей уроинфекций является *E. coli*. В период стресса и обострения многих хронических заболеваний в моче может быть повышен уровень норадреналина, который, в свою очередь, может оказывать стимулирующее действие на уропатогены. Так как количество катехоламинов и их метаболитов, выделяющихся с мочой, отражает активность симпато-адреналовой системы организма, а их физиологическая концентрация присутствует в моче постоянно, то представляет несомненный интерес изучение их влияния на уропатогенные микроорганизмы. Цель работы – оценка влияния норадреналина на биопленочную активность уропатогенного штамма *Escherichia coli*.

В работе использовали уропатогенный штамм *E. coli*, полученный от больного мочекаменной болезнью, госпитализированного в ГБУЗ НО Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко. Анализ биопленкообразования проводили в 96-луночных полистирольных планшетах. Биопленку выращивали в среде ДМЕМ в течение 24 часов при температуре 37°C без перемешивания с добавлением норадреналина в концентрации 0,052% (опыт) или без гормона (контроль). Каждый опыт повторяли по 6 раз для усреднения показаний. Перед окраской биопленку промывали от планктонных форм и фиксировали 96% этиловым спиртом 10 минут. Для окраски были выбраны красители генциан фиолетовый и Конго красный. Окраска 0,1% водным генциан фиолетовым проводилась в течение 3 минут, концентрированным водным раствором Конго красного – в течение 15 минут. Экстракция красителей осуществлялась 96% этиловым спиртом при постоянном помешивании в течение 10 минут. Измерение оптической плотности проводилось на многоканальном спектрофотометре при длине волны 570 и 640 нм.

Результаты: анализ оптической плотности окрашенных растворов показал влияние норадреналина на биопленочную активность *E. coli*. При окрасе Конго красным оптическая плотность опытных проб была выше контрольных в 1,7 раз, при окраске кристаллическим фиолетовым – в 1,1 раз. Наиболее эффективным методом окраски оказалась окраска концентрированным водным раствором Конго красного. Эффективность окраски этим красителем связана со способностью Конго красного окрашивать полисахаридный межклеточный матрикс биопленки, тогда как генциан фиолетовый окрашивал преимущественно бактерии. Влияние норадреналина на способность *E. coli* образовывать биопленки можно связать со схожестью структуры исследуемого катехоламина с аутоиндукторами, используемыми грамотрицательными бактериями для поддержания системы Quorum sensing.

Показано положительное влияние норадреналина на биопленкообразование и продукцию внеклеточного матрикса уропатогенной *E. coli*.

Работа поддержана РНФ № 21-15-00371.

АНАЛИЗ РОЛИ ЭНДОГЕННОЙ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

И. А. Автушенко¹, А. И. Якупова¹, Р. Г. Фархутдинов¹, О. В. Ласточкина²

¹Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
iravtuschenko@mail.ru

²Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа, просп. Октября, 71

Некоторые штаммы непатогенных эндофитных бактерий *Bacillus* spp. способны стимулировать рост растений и повышать их устойчивость к ряду болезней и абиотических стрессов, существенно снижающих урожайность продовольственных культур. Ранее было показано, что в условиях засухи предобработанные эндофитными бактериями *B. subtilis* 10-4 растения пшеницы (*Triticum aestivum*) сорта Экада 70 характеризовались улучшенными показателями роста и снижением уровня окислительных повреждений клеток, что коррелировало с повышением эндогенной салициловой кислоты (СК) в них под влиянием бактериальной обработки. Цель данной работы заключалась в анализе роли эндогенной СК в реализации защитного эффекта эндофитных бактерий *B. subtilis* 10-4 на рост и окислительный статус пшеницы при осмотическом стрессе (12% ПЭГ-6000) с использованием ингибитора биосинтеза СК 1-аминобензотриазола (АБТ).

Исследования проводились на гидропонных проростках *Triticum aestivum* сорта Экада 70 в начальных стадиях онтогенеза. Семена перед посевом замачивали (1 час) в суспензии *B. subtilis* 10-4 (10⁵ КОЕ/мл), АБТ (100 мМ), АБТ (100 мМ) + *B. subtilis* 10-4 (10⁵ КОЕ/мл) или воде (контроль) и проращивали при +20...22°C (16-часовой световой день). 3-сут проростки пересаживали в стаканы с 12% ПЭГ-6000 (стресс) или воду (норма) и через разные промежутки времени оценивали рост, содержание эндогенной СК и уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ). Воздействие осмотического стресса значительно тормозило рост корней, побегов и накопление их биомассы и увеличивало уровень окислительного повреждения клеток, о чем судили по содержанию конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегиду (МДА). Обработка *B. subtilis* 10-4 снижала (до 50%) уровень негативного влияния засухи на эти же показатели роста и ПОЛ, что указывает на индукцию у растений защитных реакций. Кроме того, бактериальная обработка привела к увеличению содержания эндогенной СК в растениях. Однако, в вариантах с совместным применением *B. subtilis* 10-4 и АБТ защитного эффекта не наблюдалось так как показатели роста и ПОЛ были на уровне контрольных небактеризованных растений. Это сопровождалось предотвращением вызываемого бактериями увеличения эндогенной СК в присутствии АБТ. Итак, полученные данные свидетельствуют о выполнении *B. subtilis* (10-4)-индуцированного накопления эндогенной СК и роли интермедиата в реализации протекторного действия этих бактерий на растения пшеницы в условиях осмотического стресса.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 19-016-00035).

ПЦР ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ КРОЛИКОВ

Д. Ю. Алексеев, Р. В. Репкин

Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых, 600000, Владимир,
ул. Горького, 87; *raves95@mail.ru*

Миксоматоз кроликов – остро протекающая, высоко контагиозная вирусная болезнь, которая характеризуется серозно-гнойным конъюнктивитом, воспалением слизистых оболочек, образованием опухолевых узелков на коже и подкожных студенистых отеков преимущественно в области головы, анального отверстия и половых органов. За последние годы вспышки миксоматоза регистрируются в Тунисе, Швейцарии, Люксембурге, Мексике, Греции и России.

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов – остро протекающая высоко контагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся явлениями геморрагического диатеза во всех органах, в особенности в легких и печени. Особые опасения вызывает распространение нового типа ВГБК-2, который по своим патогенным свойствам отличается от циркулировавших в России типов. Последние несколько лет вспышки ВГБК регистрируются в Дании, США, Канаде, Италии, России и на Кубе.

В связи с высокой контагиозностью и смертностью при данных вирусных инфекциях (90–100%), а также с устойчивостью вирусов к факторам внешней среды необходимо применение современных методов диагностики с целью быстрого и своевременного принятия мер по предотвращению распространения заболеваний. Одним из таких методов является полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени.

Целью данной работы являлась разработка метода ОТ-ПЦР в режиме реального времени для выявления геномов вирусов ВГБК 1 и 2 типов, а также миксомы кроликов в пробах патологического материала.

На первом этапе работ провели анализ доступных в базе данных GenBank нуклеотидных последовательностей геномов различных штаммов и изолятов вирусов ГБК и миксомы кроликов. На основании проведенного анализа были подобраны две пары олигонуклеотидных праймеров, комплементарных генам M022L вируса миксомы кроликов и VP60 вируса геморрагической болезни кроликов (1 и 2 типов). Для детекции накопления продуктов амплификации генома вируса ГБК использовали зонд, несущий флуорофор FAM (канал Green), а генома вируса миксомы канал Orange с использованием гибрида зонда, несущего флуорофор ROX. В результате проведенных исследований был определен оптимальный состав реакционной смеси.

В ходе исследований были подобраны оптимальные условия проведения мультиплексной ОТ-ПЦР в режиме реального времени для одновременного выявления геномов вирусов ГБК и миксомы кроликов. Были оценены воспроизводимость разработанной системы, её диагностическая специфичность и чувствительность, которые составили 100%.

Таким образом, нами подобрана оригинальная система олигонуклеотидных праймеров и ДНК-зондов, на ее основе разработана высокоспецифичная и высокочувствительная ОТ-ПЦР в режиме реального времени для идентификации геномов вирусов ГБК и миксомы кроликов.

О НАТУРАЛИЗАЦИИ ВИДА ОБЛЕПИХА КРУШИНОВИДНАЯ (*HIPPOPHAE RHAMNOIDES*) НА ТЕРРИТОРИИ НИЖНЕГО НОВОГОРОДА

О. Р. Алилова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alilovaolga@gmail.com

В 80–90х годах XX века *Hippophaë rhamnoides* широко культивировалась садоводами на территории Нижнего Новгорода и его пригородов. Постепенно «мода» на эту культуру прошла и в настоящее время на садовых участках её можно встретить изредка. Однако за прошедшие годы облепиха одичала и стала формировать собственные сообщества. Их площадь сильно варьирует от небольших групп кустарников площадью 40–50 м² (вне поймы) до обширных зарослей протяженностью 1,5 км (в пойме р. Оки). Сведения о таких зарослях появились 25 лет назад. Цель работы: выявление флористического состава фитоценозов с доминированием одичавшей облепихи, их синтаксономического статуса.

Исследования были выполнены в июле-августе 2021 года, детально-маршрутным методом, с выполнением геоботанических описаний по традиционной методике. Всего было сделано 41 описание пробных площадей, заложенных в сообществах облепихи и 5 описаний – в фитоценозах ивы остролистной (вербы), поскольку в притеррасной пойме р. Оки, где теперь значительные площади занимают фитоценозы облепихи, ранее были широко распространены сообщества этого вида ивы.

Наиболее активно вид натурализуется на нарушенных участках, для которых характерна ослабленная межвидовая конкуренция, высокая инсоляция, невысокая плотность почв и нередко наличие различных водоемов. Особенно часто облепиха образует заросли в прирусловой пойме р. Оки. В этих условиях заросли облепихи на значительной территории вытеснили ранее широко распространенные здесь сообщества вербы (*Salix acutifolia*). Подробно рассматривается видовой состав растений, отмеченных в зарослях *Hippophaë rhamnoides* и их опушках. Сейчас этот вид довольно широко распространен в городе и продолжает появляться на все новых территориях. Составлен конспект, насчитывающий 70 видов высших сосудистых растений, включая 11 адвентивных, из 26 семейств и 58 родов. Самыми крупными по численности видов являются семейства Asteraceae (18 видов), Poaceae (10), Fabaceae (7) и роды *Artemisia* (4 вида), *Trifolium* (3). Эколого-ценотический анализ выявил преобладание лесных и лугово-пойменных видов с небольшим участием видов степного флористического комплекса. Отмечено широкое участие евроазиатских и циркумполярных видов. Эколого-ценотический анализ видов, связанных с облепихой, указывает на специфичность мест натурализации *H. rhamnoides*, близких по ряду признаков к природным местообитаниям, но отличающихся в условиях Н. Новгорода высокой долей представителей луговой и сорной эколого-ценотических групп.

Изученные сообщества с доминированием облепихи принадлежат к асс. *Artemisio vulgaris-Hippophaetum rhamnoidis* Golub, Bondareva, Sokoloff 2004 союза *Artemisio-vulgaris-Hippophaion rhamnoidis* Golub, Bondareva, Sokoloff 2004. Диагностические виды ассоциации *Dactylis glomerata*, *Artemisia vulgaris*, *Calamagrostis epigeios*, *Tanacetum vulgare*.

РАЗНООБРАЗИЕ ЖЕЛЕЗИСТЫХ СТРУКТУР В ЭПИДЕРМЕ *SALVIA VERTICILLATA*

А. Алишха

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
abdallatif.sh91@gmail.com

Синтез, хранение и высвобождение эфирного масла в ароматических растениях происходит в различных специализированных секреторных структурах, таких как протоки, масляные клетки, схизогенные и лизигенные полости или железистые волоски.

В семействе *Lamiaceae* летучие органические компоненты образуются и хранятся в различных железистых трихомах и железках, которые могут использоваться в качестве надежных таксономических признаков для идентификации таксонов.

Исследования анатомии и морфологии секреторных структур, характерных для конкретных ботанических семейств, в сочетании с анализом состава эфирного масла, выделяемого и накапливаемого в этих структурах позволяют выявить специфические признаки строения, которые можно применять при идентификации растительного сырья, а также определить спектр их практического использования.

Виды шалфея были важны с древних времен и используются в традиционной медицине по всему миру. Они обладают антиоксидантной, антибактериальной, противодиабетической, противоопухолевой, антиплазмодийной и противовоспалительной активностью. Многие виды шалфея используются в качестве травяного чая и пищевых продуктов, в косметической, парфюмерной и фармацевтической промышленности.

Цель работы – выявить разнообразие и специфические признаки в строении железистых секреторных структур с помощью световой и флуоресцентной микроскопии.

Шалфей мутовчатый (*Salvia verticillata*) длиннокорневищное травянистое многолетнее растение, гемикриптофит из семейства *Lamiaceae*. Стебли многочисленные, 30–60 см высотой, густо опушенные. Вид имеет Евро-западноазиатский ареал. Основными компонентами эфирного масла *Salvia verticillata* выступают спатуленол, α -пинен, лимонен и гексагидрофарнезиллацетон. Известно, что антибактериальная активность этих составляющих аналогична активности масел *Salvia officinalis*.

Согласно нашим исследованиям в эпидерме листа у *Salvia verticillata* выявлены 4 типа структур внешней секреции: железистые трихомы из одноклеточной головки на одноклеточной ножке, двухклеточной головки на одноклеточной ножкой, одноклеточной ножки и одноклеточной грушевидной секреторной головки, а также сидячие железки *Lamium*-типа. По нашим данным средний диаметр головки у железок составляет (43,4 μm). В количественном соотношении преобладают железки.

Флуоресцентная микроскопия позволила лучше увидеть структуру строения железистых трихом и железок по сравнению со световой микроскопией.

ИНДИКАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ БРУЦЕЛЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСНОЙ МЕТОДИКИ НА ОСНОВЕ ПЦР

Е. А. Анисимова, Д. А. Миргазов, К. А. Осянин, Н. И. Хаммадов

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 420045, Казань, Научный городок-2; *Elizaveta-real@mail.ru*

Род *Brucella* включает в себя большое разнообразие видов, являющиеся возбудителями особо опасной инфекции – бруцеллеза. Для быстрой и точной индикации возбудителя данного заболевания широкое применение находят молекулярно-генетические методы, основанные на видоспецифической ПЦР и анализе «вариабельного количества tandemных повторов» – VNTR (variable number tandem repeats). Целью данной работы являлась разработка алгоритмов дифференциальной ПЦР-индикации бактерий рода *Brucella* с использованием баз данных их геномов.

Нуклеотидные последовательности бактерий рода *Brucella* для дальнейшего биоинформационного анализа их геномов взяты из базы данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Дизайн праймеров и проверка их специфичности проведены с использованием алгоритма BLASTn и программы Vector NTI 9.1.0» (Invitrogen Corporation). Геномную ДНК выделяли набором «МАГНО-сорб» согласно инструкции производителя. Полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ПЦР-РВ) проводили с помощью прибора «С1000 Thermal Cycler» С1000 с оптическим блоком CFX96 («BioRad», США).

С помощью биоинформационного анализа геномов *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* определили видоспецифические и родоспецифические области их геномов, пригодные для индикации возбудителей бруцеллеза. В частности, локус «BSCP31» выбрали для индикации рода *Brucella*, локус «BAW-20082» - для индикации *B. abortus*, локус «COR52_12390» – для индикации *B. melitensis*. На основании последовательностей вышеперечисленных локусов сконструировали праймеры и зонды, имеющие разные флуоресцентные метки (FAM – род *Brucella*, ROX – *B. abortus*, R6G – *B. melitensis*), для проведения мультиплексной ПЦР. В качестве положительного контроля амплификации использовали разработанный в рамках данного исследования плазмидный вектор «pAL2-T», представляющий собой вставку, содержащую все маркерные локусы. Установили, что амплификация с ДНК бактерий *B. suis* проходит только с родовыми праймерами и зондом (по каналу FAM). При проведении амплификации с ДНК *B. abortus* и *B. melitensis* наблюдали накопление флуоресценции по родовым маркерам бруцелл (по каналу FAM), а также с видоспецифическими праймерами и зондами (по каналам ROX и R6G). Дизайн праймеров для MLVA анализа осуществили на основании VNTR-локусов, представленных в открытом доступе на сайте <http://mlva.upsud.fr/mlvav4/genotyping/query.php>. Апробацию разработанных для MLVA анализа праймеров провели на штамме *B. melitensis* Rev.1 с помощью ПЦР с последующим электрофоретическим разделением продуктов амплификации в полиакриламидном геле. Обнаружили, что результаты амплификации всех исследуемых VNTR-локусов были положительны. Количество tandemных повторов в данных локусах определили как разницу между молекулярной массой ампликона (по результатам электрофореза) и размером амплифицируемого фрагмента «без повторов», которую делили на количество нуклеотидов в вариабельной области.

Таким образом, в рамках предложенной нами стратегии индикации возбудителей бруцеллеза, первым этапом является определение видовой принадлежности исследуемого изолята, после чего можно провести MLVA-анализ для идентификации конкретного штамма.

УРОВЕНЬ МРНК CD16A И CD16B В КРОВИ БОЛЬНЫХ ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Х. Ариуа¹, О. А. Коровин²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Khalil256@outlook.fr

²Городская больница № 33, 603076, Нижний Новгород, просп. Ленина, 54

Изучение молекулярно-биологических механизмов нарушения иммунных процессов при злокачественных новообразованиях имеет важное значение для разработки новых технологий диагностики, мониторинга и терапии рака. Одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний у мужчин является рак предстательной железы. Целью настоящего исследования явилась оценка уровня мРНК CD16A (*FCGR3A*) и мРНК CD16B (*FCGR3B*) в крови пациентов с раком предстательной железы в сопоставлении с уровнем в крови больных с гиперплазией предстательной железы и здоровых лиц.

Проанализированы образцы периферической крови 49 здоровых доноров, 44 больных раком предстательной железы и 37 больных с гиперплазией предстательной железы, проходящих лечение в Нижегородской городской больнице №33. Определение относительных уровней мРНК в образцах периферической крови и опухолях проводили методом обратной транскрипции–полимеразной цепной реакции в реальном времени.

В периферической крови больных раком предстательной железы и гиперплазией предстательной железы уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* был статистически значимо ниже, чем у здоровых лиц. При этом нормированный уровень мРНК *FCGR3B* в крови больных раком предстательной железы и гиперплазией предстательной железы, а также в крови здоровых доноров превышал уровень мРНК *FCGR3A*.

Наиболее высокий уровень мРНК *FCGR3A*, *FCGR3B* был обнаружен у больных раком предстательной железы, в крови которых содержание простат-специфического антигена находилось в пределах от 10 до 20 нг/мл. Уровень мРНК *FCGR3A* коррелировал с концентрацией в крови тестостерона.

В крови больных раком предстательной железы и гиперплазией предстательной железы обнаружены изменения уровня мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B*. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной возможности использования данных показателей в качестве мониторинговых иммунологических маркеров при раке и доброкачественной гиперплазии предстательной железы.

РЕЦЕПТОРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ И НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У СТУДЕНТОВ ННГУ ДО И ПОСЛЕ ИНФИЦИРОВАНИЯ SARS-CoV-2

В. С. Асманкина, И. П. Иванова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vasilinaasmankina@mail.ru

В настоящее время очень актуально исследование рецепторного взаимодействия буккального эпителия и нормальной микрофлоры ротовой жидкости в связи с пандемией SARS-CoV-2 и широким распространением респираторных заболеваний. Рецепторы буккальных эпителиоцитов в норме заняты представителями нормальной микрофлоры и не оставляют возможности для контаминации патогенами. Контаминационная резистентность буккального эпителия – это устойчивость буккального эпителия к попаданию потенциально опасных для здоровья человека микроорганизмов.

Целью данной работы является анализ рецепторных взаимодействий буккальных эпителиоцитов и микрофлоры ротовой жидкости студентов ННГУ им. Н.И. Лобачевского в норме и после инфицирования SARS-CoV-2 в 2020–22 гг. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи: 1) Проанализировать рецепторную способность буккального эпителия и состав микрофлоры ротовой жидкости у студентов ННГУ 19–27 лет, болевших и не болевших SARS-CoV-2. 2) Сопоставить рецепторную способность буккального эпителия и состав микрофлоры ротовой жидкости у студентов ННГУ 19–27 лет, болевших и не болевших SARS-CoV-2.

Материалом исследования служила слюна студентов ННГУ 19–27 лет. Испытуемые были подразделены на 2 группы: болевшие SARS-CoV-2 (10 человек) и не болевшие SARS-CoV-2 (30 человек). Готовили мазки, фиксировали. Окрашивали препараты по Граму. Высушенные мазки микроскопировали с иммерсионным объективом (увеличение $\times 100$). Использовали микроскоп БИОМЕД-4 и цифровую камеру для микроскопа TourCam. На каждом препарате оценивали 25 отдельно лежащих клеток эпителия, считали на них количество грамположительных и грамотрицательных бактерий разных форм. В мазке также оценивали представителей микрофлоры ротовой жидкости: кокков, палочек, диплококков, стафилококков, стрептококков, стрептобацилл.

Выявлена тенденция к уменьшению контаминационной способности буккальных эпителиоцитов в отношении грамположительных кокков и стрептобацилл у переболевших SARS-CoV-2 студентов по сравнению с неболевыми (в 1,5 и 2,4 раза соответственно). Отмечена тенденция к снижению рецепторной способности буккальных эпителиоцитов в отношении грамотрицательных палочек у переболевших SARS-CoV-2 студентов по сравнению с не болевыми (в 1,44 раза). Установлена тенденция к уменьшению количества грамположительных и грамотрицательных кокков в составе микрофлоры ротовой жидкости у переболевших SARS-CoV-2 студентов по сравнению с не болевыми (в 1,4 и 1,26 раз соответственно). Грамположительные палочки в составе ротовой жидкости встречаются у 80% болевших студентов и не встречаются у не болевших.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА С ЕГО СТРУКТУРНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

К. А. Ачкасова¹, А. А. Мусеев², Е. Б. Киселева¹, К. С. Яшин¹, Н. Д. Гладкова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *achkasova.k@bk.ru*

²Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

В течение последних десятилетий была продемонстрирована перспективность применения оптической когерентной томографии (ОКТ) для исследования тканей головного мозга. Большинство исследований сосредоточено на проблеме поиска чистого края резекции глиальных опухолей путем дифференцирования опухолевых и нормальных тканей, в частности, белого вещества. Однако до сих пор в работах не уделялось внимание изучению оптических свойств нормального белого вещества, характеризующегося различным расположением в головном мозге, несмотря на известные морфологические неоднородности. Более того, до сих пор остается неизвестной взаимосвязь между морфологическими характеристиками белого вещества и природой регистрируемого сигнала, что играет чрезвычайно важную роль для продолжения исследований свойств проводящих путей при помощи ОКТ.

Цель работы – изучение взаимосвязи между структурными характеристиками белого вещества головного мозга, основанными на количественных параметрах иммуногистохимических (ИГХ) изображений, и его оптическими свойствами на основе количественной обработки массивов ОКТ данных.

Материалы и методы. Образцы белого вещества ($n=24$), полученные в ходе аутопсий от 3 пациентов, умерших от экстракраниальных патологий, были исследованы методом ОКТ. Были исследованы следующие зоны белого вещества головного мозга: поверхностное белое вещество – зоны коротких и длинных ассоциативных волокон; глубокое белое вещество – внутренняя капсула, мозолистое тело и ствол мозга. Количественный анализ ОКТ изображений проводился путем расчета коэффициента затухания ОКТ сигнала. Для изучения структурных характеристик исследуемых образцов было проведено ИГХ исследование с использованием антител к основному белку миелина (МВР). Затем с окрашенных гистологических срезов был получен набор ИГХ изображений, подвергнутый количественной обработке с использованием авторского алгоритма, позволяющего характеризовать морфологию миелиновых волокон и количество ядер.

Были рассчитаны медианные значения, а также значения 25 и 75 перцентилей коэффициента затухания ОКТ сигнала для каждой из исследуемых областей, при этом были обнаружены статистически значимые отличия оптических свойств белого вещества, характеризующегося различным расположением в головном мозге ($p<0,001$). Количественный анализ ИГХ изображений также выявил разницу в морфологических характеристиках белого вещества, при этом ряд областей были дифференцированы на основании параметра, характеризующего расположение волокон ($p<0,001$), в то время как другие отличались по количеству ядер ($p<0,001$). Последующий корреляционный анализ продемонстрировал корреляцию между коэффициентом затухания и количественными параметрами ИГХ изображений.

Разработан уникальный подход к количественной оценке ИГХ изображений белого вещества. Обнаружена статистически значимая корреляция между структурными характеристиками белого вещества и его оптическими свойствами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 18-29-01049_мк.

СРАВНЕНИЕ РЕЖИМОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ СКОРОСТИ РОСТА И ПРОДУКТИВНОСТИ ЗЕЛЁНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

М. А. Ачкасова, Н. В. Елагин, С. С. Булынина, Э. Э. Зиганшина

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
elvira.ziganshina@kpfu.ru

Микроводоросли – перспективные агенты биотехнологий. Сегодня микроводоросли активно применяются с целью получения корма, продуктов питания, биофармацевтических препаратов, косметических средств, а также в отрасли биоэнергетики. Микроводоросли также культивируют на сточных водах и отходах сельского хозяйства и промышленности. Таким образом, микроводоросли заслуженно рассматриваются как продуценты разнообразных биологически активных компонентов и активные агенты результативной очистки загрязняющей среды.

В настоящей работе было оценено влияние различных форм азота в питательной среде и температурного режима на скорость роста и продуктивность зеленой микроводоросли вида *Chlorella sorokiniana*.

Микроводоросль *C. sorokiniana* культивировали в фотобиореакторе Labfors 4 Lux (Infors HT) в синтетической среде с NH_4^+ и NO_3^- , а также на разбавленных отходах сельского хозяйства с NH_4^+ . Показатели роста и продуктивности микроводоросли контролировали путём ежедневного измерения оптической плотности (OD750), определения концентрации пигментов и подсчета количества клеток. Концентрацию нитратов, фосфатов и сульфатов оценивали с использованием ионного хроматографа Dionex ICS-900 (Thermo Fisher Scientific), в то время как эффективность утилизации ионов аммония измеряли колориметрическим методом с применением реактива Несслера.

Результаты исследований показали, что для роста тестируемой микроводоросли ионы аммония в синтетической среде роста предпочтительнее в качестве формы азота. Накопление пигментов протекает активнее при повышенных температурах, тогда как накопление биомассы – при температуре $+30^\circ\text{C}$.

Работа выполнена при финансовой поддержке «Российского фонда фундаментальных исследований» в рамках научного проекта № 18-29-25058.

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Д. М. Баданина^{1, 2}, Л. М. Обухова², К. Н. Конторщикова^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *badjanochka@vk.com*

Проблема глиальных онкологических заболеваний на сегодняшний момент является одной из самых значимых в нейрохирургии. Это обусловлено их «омоложением», резистентностью к современным методикам лечения, высокой летальностью и степенью инвалидизации. Прогноз пациентов с глиальными новообразованиями головного мозга остается неблагоприятным, несмотря на достижения и разработки различных методик последнего десятилетия. В настоящее время в механизмах канцерогенеза предполагается участие свободных радикалов, которые инициируют окислительное повреждение макромолекул организма. В условиях окислительного стресса возникает дисбаланс между прооксидантами и антиоксидантами, поэтому происходят изменения активности ферментов антиоксидантной системы в опухолевой ткани и в крови, что может являться диагностическим признаком онкологического заболевания на разных стадиях опухолевого роста.

Целью настоящей работы явился анализ свободнорадикальной антиоксидантной активности в тканях новообразований головного мозга различной степени злокачественности и в плазме крови пациентов.

В исследовании использовали послеоперационный материал 6 пациентов с глиальными новообразованиями головного мозга и анализировали три зоны: I – нормальная ткань, II – перифокальная зона, III – собственно опухолевая зона. Также исследовали плазму крови пациентов и плазму 7 здоровых людей в качестве контроля. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, г. Нижний Новгород. Основными методами исследования были выбраны: метод индуцированной биофлуоресценции (БХЛ) по Кузьминой Е. И. с соавт. (1983) и метод оценки активности супероксиддисмутазы (СОД) по М. Nishikimi в модификации Дубининой Е. Е. (1988). Для описания окислительной возможности образцов методом БХЛ использовались параметры: I_{\max} – максимальная интенсивность свечения, показывающая потенциальную способность биологического объекта к свободнорадикальному окислению, мВ; S – светосумма хемилюминесценции за 30 с, равная обрыву цепи свободнорадикальных процессов, мВ*с; $\text{tg}(-2\alpha)$ – тангенс угла наклона заднего фронта импульса, характеризующий интенсивность работы антиоксидантной системы по нейтрализации свободных радикалов, усл.ед.; Z – показатель, обратно пропорциональный работе антиоксидантной системы, усл.ед. Статистическая обработка результатов проводилась в компьютерной программе StatTech v. 2.4.8 (ООО «Статтех», Россия).

При анализе результатов выявлено, что свободнорадикальная активность повышается в опухолевой ткани и плазме крови в сравнении с неповреждённой тканью (в 1,2 и 1,6 раз соответственно) и перифокальной зоной (в 1,5 и 2 раза соответственно), а интенсивность работы антиоксидантной системы, наоборот, снижается. Выявлено, что активность СОД имеет тенденцию к снижению по мере трансформации нормальной ткани в опухолевую: в 26,4 раза по сравнению с неповреждённой тканью, в 3,2 раза по сравнению с перифокальной зоной. При сравнении с контрольной группой также обнаружено снижение интенсивности работы фермента в опухолевой зоне и плазме крови в 6,6 и 3,5 раза соответственно.

Таким образом, при трансформации здоровой ткани в опухолевую наблюдается повышение окислительной способности ткани и снижение уровня работы супероксиддисмутазы в ней.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СТРЕССА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ НА ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕАКЦИЕЙ НА СТРЕСС И С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ

А. Ю. Баженов¹, С. К. Баженова¹, А. О. Манолова², А. А. Квичанский²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1; anton2311@icloud.com

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 117485, Москва, ул. Бутлерова, 5А

Стресс в раннем онтогенезе является одной из причин развития психоневрологических заболеваний в более старшем возрасте. Стрессорное воздействие в критический период развития гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси может приводить к нарушению системы рецепции кортикостероидов – минерал- и глюкокортикоидов, участвующих в регуляции гомеостаза при стресс-реакции. В связи с этим, реакция на стресс во взрослом возрасте изменяется, возникает предрасположенность организма к стрессогенным заболеваниям. Кроме того, повышенное производство кортикостероидов в раннем онтогенезе в момент формирования нервной системы влияет на развитие и функционирование мозга. Одним из механизмов такого влияния является праймирование микроглии, приводящее к изменению ее реакции на провоспалительные стимулы. Маркером нарушения нейрон-микроглиального взаимодействия может служить изменение экспрессии хемокина фракталкина и/или его рецептора.

В работе проводили оценку экспрессии генов минерал- и глюкокортикоидных рецепторов (NR3C2 и NR3C1 соответственно), фракталкина (CX3CL1) и его рецептора (CX3CR1) в гиппокампе крыс линии Вистар возраста 1 месяц, подвергнутых стрессу посредством инъекций липополисахарида на 3 и 5 дни постнатального онтогенеза. Исследование экспрессии проводили путем оценки относительной представленности мРНК при помощи обратной транскрипции с последующей количественной полимеразной цепной реакцией «в реальном времени» относительно нормировочных генов *Hprt* и *Ywhaz*. Оценку экспрессии проводили в гиппокампе, как в структуре мозга наиболее подверженной влиянию стрессирующих событий, причем экспрессию в дорсальной и вентральной частях гиппокампа оценивали отдельно.

Полученные данные были проверены на соответствие нормальному распределению и на равенство дисперсий между группами, после чего был проведен двухфакторный дисперсионный анализ (факторы «неонатальный стресс» и «стресс в подростковом возрасте»). По итогам статистического анализа не было выявлено влияния стресса в раннем онтогенезе на экспрессию рецепторов глюкокортикоидов ни в дорсальном, ни в вентральном отделах гиппокампа. Однако стресс в подростковом возрасте приводил к увеличению экспрессии мРНК минералкортикоидных рецепторов в дорсальной части гиппокампа. Не было обнаружено влияния ни неонатального стресса, ни стресса в подростковом возрасте на экспрессию фракталкина и его рецептора ни в одной из исследованных частей гиппокампа.

Полученные данные необходимы для понимания механизмов патогенеза психоневрологических заболеваний, ассоциированных со стрессом в раннем онтогенезе.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛЯ МИКРОРНК У ПАЦИЕНТОВ С ТРАВМОЙ СПИННОГО МОЗГА

И. А. Байчурин¹, С. В. Огурцов², И. А. Шульман², М. И. Маркелова¹, Я. О. Мухамедшина¹

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

²Республиканская клиническая больница, 420064, Казань, Оренбургский тракт, 138

Травма спинного мозга (ТСМ) является распространенным вариантом повреждения центральной нервной системы (ЦНС), которое приводит к частичному или полному нарушению чувствительной, двигательной или вегетативной функций. В качестве источника биомаркеров целесообразно использовать спинномозговую жидкость (СМЖ), т.к. она находится в прямом контакте с ЦНС. МикроРНК представляют собой класс малых некодирующих РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. МикроРНК могут модулировать экспрессию генов и, таким образом, играть важную роль в различных нейробиологических процессах, таких как дифференцировка клеток, рост, пролиферация и нервная активность, а также в посттравматических патологических процессах. Стабильность микроРНК в биологических жидкостях и их тканеспецифичность делают эти молекулы привлекательными кандидатами в качестве неинвазивных биомаркеров для оценки тяжести травмы и динамики восстановления.

Целью работы было исследовать профили микроРНК в СМЖ пациентов с ТСМ в острый период и контрольной группы условно-здоровых добровольцев. Образцы СМЖ объемом 2-3 мл были взяты с помощью люмбальной пункции при поступлении пациентов в нейрохирургическое отделение №2 Республиканской клинической больницы (Казань, Россия). Тотальную РНК выделяли из 1,5 мл ликвора методом фенол-хлороформной экстракции с помощью TRIzol LS Reagent. Количество и качество полученной РНК оценивали с помощью флуориметра Qubit 2.0 и микрофлюидного электрофореза на приборе Bioanalyzer 2100. Содержание микроРНК в образцах с тотальной РНК определяли с помощью набора реагентов Bioanalyzer Small RNA kit. Библиотеки для секвенирования были подготовлены с применением SEQuoia Complete Stranded RNA library prep kit. Секвенирование проводили на платформе Illumina NextSeq 500. Биоинформатический анализ проводился с применением SEQuoia RNA library.

Было установлено статистически значимое изменение экспрессии для 17 микроРНК. Наибольшие изменения наблюдались для hsa-miR-203a-3p, hsa-miR-145-5p и hsa-miR-130a-3p, их экспрессия снижалась у пациентов в острый период ТСМ на 3 сутки в 64 раза по сравнению с контрольной группой. Интересно, что микроРНК hsa-miR-145-5p имеет более 900 мишеней, в том числе фактор регуляции миелина *MYRF*, который участвует в миелинизации ЦНС. Для hsa-miR-130a-3p обнаружено около 900 мишеней, включая *RAP2C* – член семейства онкогенов *RAS*, который регулирует клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. Помимо этого, hsa-miR-130a-3p способна нацеливаться на *ENPP5*, который может играть роль в коммуникациях между нейрональными клетками. Данные по профилям микроРНК будут использованы для дальнейшего анализа динамики восстановления пациентов с ТСМ и применения полученных знаний в клинике.

Работа частично профинансирована за счет субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на Государственное задание в сфере научной деятельности 0671-2020-0058.

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО И ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ НА РАЗМЕР ПОРАЖЕНИЯ МОЗГА МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС В МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

А. Н. Баранова, М. Р. Ахметшина, С. А. Гаврилова

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
119192, Москва, Ломоносовский просп., 27/1; *bar.alexandra2015@yandex.ru*

Ишемический инсульт (ИИ) является важнейшей медико-социальной проблемой. По статистике ВОЗ за 2019 г. инсульт занимает второе место среди причин смертности населения в мире, при этом наиболее часто встречается именно ИИ. Перспективными способами улучшения последствий ИИ являются ишемическое (ИП) и неспецифическое холодное (ХП) прекондиционирования. В основе этих явлений лежат процессы метаболической адаптации тканей и органов к ишемии или к стрессовому холодному воздействию, которая позволяет увеличить клеточную устойчивость к последующей более длительной ишемии. Цель – изучить влияние ИП и ХП на размер поражения головного мозга молодых и старых крыс в экспериментальной модели фокального ИИ.

Исследование проводили на 58 самцах белых беспородных крыс возраста 4 (молодые крысы) и 24 (старые крысы) месяца. Для моделирования ИИ у наркотизированных хлоралгидратом животных (400 мг/кг, в/бр) необратимо коагулировали левую среднюю мозговую артерию электрическим током. Через 72 часа после ИИ проводили планиметрическую оценку размера поражения мозга в срезах, окрашенных трифенилтетразолия хлоридом. ХП и ИП выполняли за 24 часа до окклюзии. ХП – попеременным 10-минутным высаживанием крыс на пакет со льдом и в клетку комнатной температуры, каждое высаживание выполняли по 3 повтора. ИП – попеременным 5-минутным пережатием левой и правой сонной артерии, всего 6 повторов. Значимость различий между независимыми группами оценивали непараметрическим U-тестом Манна-Уитни в программе IBM SPSS Statistics 19,0.

В исследовании было показано, что у старых крыс размер поражения мозга через 72 часа после инсульта составлял 12,9%, у молодых – 7,1 % от общего размера коры мозга. По предварительным данным, прекондиционирование холодом, проведенное за 24 часа до ишемического инсульта, не влияет на размер поражения мозга крыс; ишемическое прекондиционирование снижает размер поражения мозга в 1,2 раза у старых крыс. Таким образом, были продемонстрированы тенденции к наличию нейропротекторных эффектов ишемического прекондиционирования у старых крыс.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ
НАНОКОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ**
***Д. К. Баушева¹, Е. Л. Гурьев¹, Н. Ю. Шлягина¹, Л. В. Крылова¹, А. Б. Воловецкий^{1,2},
О. М. Кутова¹, В. А. Воденев¹, С. М. Деев^{1,3}, А. В. Звягин^{1,2,4}***

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
bausheva16@mail.ru

² Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8

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

⁴ Университет Маккуори, 2109, Австралия, Сидней, Балаклава-роуд.

На данный момент тераностика является одним из самых активно развивающихся направлений в биомедицине. Данное направление основано на разработке подходов к созданию мультифункциональных агентов, обладающих одновременно диагностическими и терапевтическими свойствами. Для этих целей наиболее перспективными представляются люминесцентные наночастицы, такие как антистоксовые нанофосфоры (НАФ).

Целью данной работы было создание и исследование эффективности адресной доставки наноконплексов на основе НАФ и белковых модулей. Основой комплексов служили НАФ структуры ядро/оболочка состава $\text{NaY}_{0,794}\text{Yb}_{0,2}\text{Tm}_{0,006}\text{F}_4/\text{NaYF}_4$. Такие НАФ обладают рядом преимуществ перед другими визуализирующими агентами: продолжительной фотолюминесценцией со сдвигом в коротковолновую область и возбуждаемой инфракрасным излучением, попадающим в «окно прозрачности» биоткани, устойчивостью к фото- и химической деградации, низкой токсичностью.

Были получены и исследованы два типа наноконплексов. В первом случае поверхность НАФ покрывали оболочкой из амфифильного чередующегося сополимера малеинового ангидрида с 1-октадеценом, который помимо гидрофилизации частиц позволяет присоединять к ним дополнительные внешние модули. Последующее покрытие поверхности НАФ полиэтиленгликолем было призвано увеличить их коллоидную стабильность и время циркуляции в кровеносном русле. В качестве внешнего нацеливающего модуля был использован белок DARPIn-LoPE - бифункциональный адресный токсин, обладающий специфичной токсичностью в отношении HER2-гиперэкспрессирующих опухолевых клеток. В экспериментах с мышами, имеющими ксенографтные HER2-положительные перитонеальные опухоли, было показано, что при интраперитонеальном введении до 75% наноконплексов накапливается в опухолевых очагах. При этом выход наноконплексов в кровеносные сосуды и накопление в здоровых органах и тканях были минимальными.

Наноконплексы второго типа были получены на основе НАФ, покрытых тетрафторборатом нитрозония (NOBF_4) и направленно сформированной белковой короной из бычьего сывороточного альбумина (БСА). Модификация поверхности НАФ при помощи NOBF_4 делает их гидрофильными и биосовместимыми. В свою очередь БСА биосовместим, не токсичен, не иммуногенен и способен ингибировать нежелательную адсорбцию белков внутренней среды организма, благодаря чему может быть использован для формирования внешней оболочки наноконплексов. При помощи лиофилизации и последующего ресуспендирования были получены коллоидно устойчивые наноконплексы НАФ- NOBF_4 -БСА со средним гидродинамическим диаметром частиц $94,19 \pm 0,64$ нм. В настоящее время проводится исследование эффективности адресной доставки в HER2-положительные опухолевые очаги наноконплексов НАФ- NOBF_4 -БСА с присоединенным нацеливающим модулем - таргетным токсином DARPIn-LoPE.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (проект № 075-15-2020-927).

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ *SCROPHULARIA UMBROSA* В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

К. А. Баштовенко, Л. З. Хуснетдинова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18;
susya00@mail.ru

Норичник теневой (*Scrophularia umbrosa*) – это многолетнее травянистое растение из семейства *Scrophulariaceae*, произрастает на Кавказе, в Европе, Малой Азии, Иране, Тибете, Сибири. Однако на территории Республики Татарстан вид имеет одиночные местообитания и находится под угрозой исчезновения. Занесен в Красные книги Республики Татарстан, Самарской области (категория 1) и Чувашской Республики (категория 4).

Многие биологические характеристики вида изучены недостаточно, из-за чего создание искусственных плантаций для сохранения вида и его использования сильно осложнено. Поэтому целью данной работы является изучение морфологических особенностей в культуре *in vitro* у регенерантов *S. umbrosa*.

Объектами исследований послужили проростки *S. umbrosa*, полученные в условиях *in vitro* из семян, прошедших предварительную стерилизацию раствором коммерческого отбеливателя «Белизна» (5,25 % гипохлорита натрия NaOCl), в течение 10 минут с последующей пятикратной промывкой дистиллированной водой. Семена были пророщены на питательной среде Мурасиге и Скуга (MS) без добавления фитогормонов, до состояния имматурного растения. В качестве первичных эксплантов использовались сегменты побегов с узлом.

Для инициации процесса морфогенеза в культуре *in vitro* и регенерации микропобегов *S. umbrosa* использовалась модифицированная питательная среда Мурасиге и Скуга, содержащая макро- и микроэлементы, витамины и дополненная регуляторами роста (6- бензиламинопурин (БАП), индолилуксусная кислота (ИУК)) в разных сочетаниях и концентрациях. Контролем послужила среда без фитогормонов. Растения культивировали в лабораторных условиях при температуре воздуха 26 ± 2 °С, освещенности 3000 Люкс, фотопериод – 16/8 часов.

В результате исследований было установлено, что добавление в среду фитогормонов индуцировало активность меристем и образование микропобегов. Культивирование микропобегов *S. umbrosa* на питательных средах, содержащих БАП в разных концентрациях (0,5-2,0 мг/л), увеличивало регенерацию микропобегов и стимулировало формирование листьев.

На 30 сутки культивирования множественное побегообразование было отмечено на среде MS, содержащей 1,5 мг/л БАП и составило $3,06 \pm 0,25$ побега/эксплант с длиной побегов $1,57 \pm 0,64$ см соответственно.

Максимальное количество сформировавшихся листьев на побегах *S. umbrosa* в условиях *in vitro* составило в среднем от 23 до 41 листьев/побег на среде с 1,0 мг/л БАП.

Наряду с побегообразованием, ризогенезная активность наблюдалась на всех средах содержащих ИУК. Добавление в среду культивирования ИУК (0,1-2,0 мг/л) стимулировало образование более развитой корневой системы.

Таким образом, подобрана модифицированная питательная среда MS, содержащая 6-бензиламинопурин для наиболее интенсивного развития микропобегов *S. umbrosa*.

СКАНИРУЮЩАЯ ИОН-ПРОВОДЯЩАЯ МИКРОСКОПИЯ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ

Н. А. Безруков^{1,2}, С. З. Бобык¹, С. Н. Плескова^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

²Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, 603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24; *nick_bezrukov@mail.ru*

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) являются ключевым звеном неспецифической резистентности организма, обеспечивающей первый фронт защиты при инфекционных заболеваниях. Физиологические свойства НГ напрямую пересекаются с изменением их морфологических параметров, что представляется актуальной точкой приложения для изучения роли и функций НГ в патологии. Поэтому высокоразрешающая визуализация является неотъемлемой частью исследования нейтрофильных гранулоцитов человека. До настоящего момента определение морфологии клеток было возможно с применением ограниченного числа высокоразрешающих методов микроскопии: электронной микроскопии (ЭМ) и сканирующей зондовой микроскопии, в первую очередь атомно-силовой микроскопии (АСМ). Сравнительно недавно появился совершенно новый метод высокоразрешающей микроскопии – сканирующая ион-проводящая микроскопия (СИПМ). В отличие от ЭМ, СИПМ позволяет визуализировать объекты в режиме реального времени, при этом оказывает значительно меньшее механическое воздействие на систему в сравнении с АСМ. Таким образом метод СИПМ является потенциально востребованным для исследования морфологии живых клеток, в частности НГ. Целью данной работы была визуализация живых НГ в высоком разрешении в режиме реального времени с использованием метода СИПМ.

Нейтрофильные гранулоциты для экспериментов выделялись из крови здоровых доноров на двойном градиенте фиколла-тразографа ($\rho=1,077$, $\rho=1,110$, 40 мин., 400g), после чего трехкратно отмывались фосфатно-солевым буфером (ФСБ) (рН 7,2-7,4, 3 мин., 400g). 2 мл суспензии клеток в ФСБ высаживались на 35 мм чашки Петри с адгезионным покрытием (Corning Inc., США) и инкубировались 20 минут при 37°C для реализации спонтанной адгезии. Затем клетки снова отмывались ФСБ. Сканирование клеток проводилось на сканирующем ион-проводящем микроскопе (ООО «НАНОПРОФАЙЛИНГ», Россия; ICARRIC Ltd, Великобритания) в ФСБ.

По итогам исследования в высоком разрешении были визуализированы живые нейтрофильные гранулоциты. В реальном времени был визуализирован процесс апоптоза, в ходе которого были определены отделяющиеся апоптотические тельца. В процессе сканирования клетки оставались стабильны на протяжении 3-4 часов с начала эксперимента. Также было определено, что СИПМ не оказывает значительного механического воздействия на НГ, поскольку клетки оставались плотно зафиксированы на поверхности чашки Петри при трехчасовом сканировании вплоть до своей смерти и разрушения. Было определено изменение ригидности клеток в процессе сканирования. Таким образом метод СИПМ был успешно апробирован для исследования морфологии и механических свойств нейтрофильных гранулоцитов.

Работа выполнена в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» ННГУ им. Н.И. Лобачевского и при поддержке гранта РНФ №22-14-20001.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭРИТРОЦИТАХ

А. А. Белов^{1, 2}, А. В. Дерюгина², М. Н. Иващенко^{1, 2}

¹Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; kafedra2577@mail.ru

²Университет Лобачевского, 603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Решающим фактором раскрытия биологического потенциала высокопродуктивных коров при интенсификации производства является ограничение технологического стресса на фоне которого происходит изменение окислительно-восстановительного баланса в клетках и нарушение работы всех систем организма. В качестве корректирующего воздействия целесообразно использовать низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ). Однако, на сегодняшний день механизмы его действия не сформированы в целостную концепцию, что диктует необходимость детального изучения данного влияния на клетки, которые представляют собой конечное звено действия экзогенных и эндогенных факторов. Целью работы ставилось исследование механизмов действия НИЛИ на окислительные процессы в эритроцитах крупного рогатого скота.

Воздействие НИЛИ изучали в экспериментах *in vitro* на эритроцитах крови коров чернопестрой породы. Исследовалось воздействие НИЛИ на эритроциты преинкубированные с адреналином ($1-10^{-9}$ г/мл) (1 серия), с кортизолом ($5-10^{-7}$ г/мл) (2 серия). Так же исследовали действие НИЛИ на интактные эритроциты (4 серия) и изучали монодействие адреналина (5 серия) и кортизола (6 серия) на интактные эритроциты в тех же концентрациях.

Облучение эритроцитов проводили лазерным душем «МарсИК» (НПО «Петролазер», Санкт-Петербург) с длиной волны 830 нм, суммарной мощностью 90 мВт с расстояния 2–5 мм в течение 10 мин.

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по концентрации малонового диальдегида (МДА). Концентрацию малонового диальдегида определяли по образованию окрашенного триметинового комплекса с максимумом поглощения при 530 нм при реакции с тиобарбитуровой кислотой.

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакетов прикладных программ BIOSTAT и Microsoft Excel. Достоверность различий средних определяли по t-критерию Стьюдента.

В ходе проведенных опытов, отмечено, воздействие НИЛИ вызывало снижение концентрации МДА на 75% относительно уровня интактных клеток. Исследование стресс-реализующих гормонов на концентрацию МДА показало, что действие адреналина приводило к повышению концентрации МДА на 12%, тогда как кортизол снижал содержание МДА в эритроцитах на 11% относительно значений интактной группы.

Влияние НИЛИ на эритроциты коров, преинкубированные с адреналином вызвало увеличение данного показателя на 37%. На преинкубированные с кортизолом эритроциты НИЛИ оказывало противоположное действие, что выражалось в снижении показателя на 20%.

Анализируя результаты действия НИЛИ можно говорить, что действие лазерного излучения на эритроциты зависит от уровня и фазы стрессового воздействия на организм: снижение процессов липопероксидации при действии кортизола и отсутствие антиоксидантного действия на фоне первой фазы стресса (фазы шока), вызванной адреналином.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-316-90066.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В КАЧЕСТВЕ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ

К. Д. Белова

Вятский государственный университет, 610000, Киров, ул. Московская, 36;
koposova2013@yandex.ru

Метод культивирования изолированных клеток растений известен еще с начала прошлого столетия и используется для решения многих экспериментальных задач в области биотехнологии. Именно растительные ткани благодаря своим уникальным свойствам вызывают большой интерес и в настоящее время. Это объясняется широким спектром применения таких клеточных культур. Растительная биомасса, полученная методом культивирования, обычно используется для экстракции биологически активных соединений, а возможность применения клеточных культур растений в качестве пищевого сырья рассматривается значительно реже. Практические возможности получения функциональных продуктов питания и их применения приобретают все большую значимость и актуальность в современном мире. Эффективность таких продуктов может быть повышена за счет культивирования растительных клеток. Для внедрения функциональных продуктов питания следует рассматривать перспективы трехмерной пищевой печати.

Возможность использования растительных клеток в пищевой 3D-печати приведена в работах некоторых зарубежных ученых. Уже сейчас известно, что в данную технологию могут быть внедрены такие культуры клеток растений, как артротспира (*Arthrospira platensis*), салат-латук (*Lactuca sativa*), морковь обыкновенная (*Daucus carota*), носток (*Nostoc sphaeroides*), хламидомонада Рейнгардта (*Chlamydomonas reinhardtii*) и другие. В мировой науке подробно исследованы возможности получения нутриентов с помощью культур растительных клеток, разработаны подходы по обогащению пищевых биочернил полезными для здоровья ингредиентами. Однако, вопрос о включении цельных растительных клеток остается малоизученным.

Институт биологии и биотехнологии Вятского государственного университета совместно с Институтом физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН ведут исследования по разработке научно-технологических основ трехмерной пищевой печати с заданными структурой и органолептическими свойствами. Мы ищем возможности использования растительных клеток, полученных биотехнологическим путем, в качестве ингредиента биочернил для трехмерной печати пищевых продуктов. Данное исследование будет способствовать развитию новых подходов в персонализации питания. Применение 3D-печати позволит учитывать индивидуальные особенности человека по сенсорному восприятию и текстуры продукта. И благодаря возможности комбинировать разные пищевые компоненты возможно приготовление продуктов с заданными характеристиками.

Каллусные культуры рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*), люпина узколистного (*Lupinus angustifolius*), бодяка полевого (*Cirsium arvense*) культивировали на модифицированных питательных средах Мурасиге-Скуга с различной комбинацией фитогормонов (2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 6-бензиламинопурина) для обеспечения максимальной скорости роста клеток. Каллусы выращивали на чашках Петри в термостате при температуре $26 \pm 1^\circ\text{C}$ в темноте, субкультивируя их с интервалом в 21 сутки.

В результате с помощью каллусных культур исследуемых видов растений уже наработана и получена биомасса клеток в количестве от 0,5 до 3,5 кг. В последующем будут даны морфологические и ростовые характеристики, изучена пищевая ценность и безопасность растительной биомассы для установления применимости растительных клеточных культур в пищевой трехмерной печати в качестве ингредиента биочернил.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 22-24-01060).

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК HELA KYOTO, ПОДВЕРГНУТЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

А. Б. Белотелов¹, Е. И. Черкасова¹, А. В. Масленникова^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
arteom.belotelow@yandex.ru

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

Одним из перспективных методов защиты нормальных тканей при проведении лучевой терапии по поводу злокачественных новообразований является фотобиомодуляция (ФБМ). При профилактике и лечении лучевых реакций со стороны нормальных тканей, попадающих в объем облучения во время проведения лучевой терапии, воздействие может происходить непосредственно в зоне расположения опухолевого очага. С этой точки зрения, крайне важна оценка возможного стимулирующего и адаптивного эффекта фотобиомодуляции в отношении не только нормальных, но и опухолевых клеток, которые могут оказаться в зоне лазерного воздействия параллельно с проведением лучевой терапии.

Целью данной работы было изучение адаптивных и стимулирующих эффектов ФБМ видимого красного диапазона и ее влияние на клеточный цикл опухолевых клеток Hela Kyoto, подвергнутых воздействию гамма-излучения в зависимости от дозы ионизирующего излучения, флюенса и последовательности воздействий.

На первом этапе эксперимента на опухолевые клетки воздействовали ФБМ с флюенсами 3 мДж/см², 30 мДж/см² и 300 мДж/см², а также 0,5 Дж/см², 1 Дж/см² и 2 Дж/см². Через час после воздействия клетки облучались гамма-излучением в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр. Через сутки после облучения производилась оценка жизнеспособности клеток методом МТТ-теста, в качестве контроля использовались клетки после гамма-облучения в аналогичных дозах.

На втором этапе эксперимента проводилось гамма-облучение опухолевых клеток Hela в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр, после чего через час на клетки воздействовали ФБМ с флюенсами, указанными выше. Через сутки проводилась оценка жизнеспособности клеток методом МТТ-теста. В качестве контроля использовались клетки, облученные только ионизирующим излучением.

Было изучено влияние различных режимов ФБМ в сочетании с ИИ на клеточный цикл клеток. В рамках исследования проводилось облучение клеток в режимах, аналогичных указанным выше. Через сутки на проточном цитофлуориметре FacsAriaIII (Becton, Dickinson and Company, США) при помощи набора для определения фаз клеточного цикла с бромдезоксипридинем, меченным APC (APC BrdU Flow Kit, кат. № 552598 Becton, Dickinson and Company, США) проводилась оценка фаз клеточного цикла опухолевых клеток.

В результате исследования было выяснено, что фотобиомодуляция несет разнонаправленные эффекты в зависимости от дозы ионизирующего излучения, флюенса и последовательности воздействий на клетки. Не было выявлено адаптивного эффекта в отношении клеток Hela Kyoto не зависимо от использованного флюенса ФБМ, кроме того, предварительное воздействие фотобиомодуляции вызвало незначительное, но статистически значимое ингибирование пролиферации опухолевых клеток через сутки после воздействия. В тоже время у опухолевых клеток, предварительно подвергнутых воздействию ионизирующего излучения (стимулирующий эффект), ФБМ с низкими флюенсами вызвало повышение пролиферативной активности. А воздействие фотобиомодуляции с высокой плотностью энергии, напротив, в некоторых случаях вызвало статистически значимое ингибирование клеточной пролиферации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант №20-02-00531).

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ В СВЯЗИ С ХАРАКТЕРОМ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА В УСЛОВИЯХ ЛЕСОПАРКОВ НИЖНЕГО НОВГОРОДА

В. В. Белоусова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
victoria20325@gmail.com

Известно, что растительный покров влияет на популяции мелких млекопитающих, оказывая на них защитное воздействие (формируя микроклимат, временные убежища) и являясь ценной кормовой базой. Однако детали воздействия растительности на популяции микромаммилий до сих пор полностью не изучены. Целью работы является исследование пространственного распределения мышевидных грызунов в зависимости от характера растительного покрова.

Исследование проводили в летний период 2021 г. на территории памятников природы «Дубрава ботанического сада университета», «Щелоковский Хутор», «Урочище Слуда», «Малиновая Гряда», расположенных в пределах Приокского и Советского районов Нижнего Новгорода. В процессе работы было заложено 5 пробных площадей. Было проведено стандартное геоботаническое описание по Сукачеву с оценкой обилия по шкале Браун-Бланке. Отлов микромаммилий осуществлялся при помощи ловушек Геро. За время исследования было отловлено 124 особи 3 видов мелких грызунов (*Clethrionomys glareolus* – 80%, *Apodemus agrarius* – 13%, *Apodemus uralensis* – 7%).

Для выделения сходных групп, снижения размерности и визуального представления результатов исследования применялся метод главных компонент пакета Statistica 6.0. Этот метод позволил выделить 2 главных фактора, определяющих распределение грызунов. Первый фактор, вероятно, определяет корреляцию микромаммилий с характером растительного покрова и положительно связан с видами-нитрофилами, индикаторами антропогенной нагрузки – крапива двудомная, щитовник обыкновенный, недотрога обыкновенная, и, следовательно, с самой антропогенной нагрузкой. В одной группе с ними оказалась полевая мышь *A. agrarius*. Возможно, этот вид является индикатором антропогенной нагрузки, т.к. на других пробных площадях, где отсутствовали перечисленные выше виды растений, полевой мыши отмечено не было. Второй фактор показал положительную корреляцию лесной мыши с такими видами, как сныть обыкновенная и копытень европейский, и отрицательную – с видами лютик кашубский и пролесник многолетний. Вероятно, это связано с различными требованиями этих групп растений по отношению к содержанию гумуса и минеральных солей в почве. Подрост клена, обильно встречающийся на одной из пробных площадей, отрицательно связан с численностью *A. agrarius*. По-видимому, именно по этой причине на этом участке был отмечен лишь один вид – рыжая полевка.

Для визуализации связи микромаммилий с растительным покровом нами были построены диаграммы рассеяния. Показано, что зверьки в основном тяготеют к местам, где проективное покрытие чуть выше среднего (60–70%).

Основываясь на результатах нашего исследования, можно заключить, что неоднородность растительного покрова оказывает влияние на пространственное размещение мелких млекопитающих. Виды *A. uralensis* и *A. agrarius* расходятся по хронологическим характеристикам, занимая, по-видимому, разные участки пространства, и их экологические ниши не перекрываются или перекрываются частично, что позволяет избежать теоретически возможной конкуренции. В целом представители всех видов мышевидных грызунов придерживаются достаточно разреженных участков с проективным покрытием, не превышающим 70%.

**СОБСТВЕННАЯ И ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ
1-АЛКОКСИ-2-ЙОД-ЭТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА А**
***Н. Д. Белых¹, Е. И. Пушкарева², Д. А. Серова³, Г. В. Ермолина¹, И. О. Вележжанинов⁴,
Д. В. Белых²***

¹Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина,
Сыктывкар, Россия; *ixx228000@gmail.com*

²Институт химии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия

³Детский технопарк «Кванториум», Сыктывкар, Россия

⁴Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Одним из перспективных направлений совершенствования фотосенсибилизаторов (ФС) медицинского назначения является усиление их способности генерировать активные формы кислорода (АФК) и увеличение различия между концентрациями, при которых проявляется темновая и фотоиндуцированная токсичность. Известно, что внедрение в молекулу ФС атомов галогена усиливают их способность генерировать синглетный кислород при фотовозбуждении. В то же время наличие в молекуле атома галогена может привести к возрастанию темновой токсичности (Songca S. P. et al., *J. of Pharmacy and Pharmacology*. 2001. V. 53. P. 1469-1476.; Gryshuk A. L. et al., *J. Med. Chem*. 2006. V. 49. P. 1874-1881.). Усиление темновой токсичности нежелательно, если соединение планируется использовать как ФС, однако, учитывая тропность порфиринов к злокачественным новообразованиям, оно может быть использовано при разработке селективных противоопухолевых цитостатиков.

В настоящей работе исследована темновая и фотоиндуцированная цитотоксичность ряда новых производных хлорофилла *a*, содержащих в молекуле атом йода в сопоставлении с хлоринами без йода по отношению к клеткам линии *HeLa* (БиолоТ, Россия).

В качестве количественной меры темновой и фотоиндуцированной токсичности использовали выживаемость клеток и величину IC_{50} (концентрация полумаксимального ингибирования роста клеток). Количество живых клеток оценивали с помощью флуориметрического анализа цитотоксичности в микрокультурах (FMCA), как описано в (Lindhagen, L. et al. *Nature protocols* 2008, 3 (8), 1364-1369, DOI:10.1038/nprot.2008.114.) в соответствии с экспериментальным планом, реализованным в (Pylyna Y.I. et al., *Int. J. Mol. Sci*. 2017, 18, 103, DOI:10.3390/ijms18010103.).

Показано, что наиболее выраженное фотодинамическое действие оказывают хлорины 1, 2 и 4. Установлено, что для соединений 1 и 2, по сравнению с не содержащим в молекуле атома йода 9, наблюдается существенно меньшая темновая токсичность при сопоставимой фотоиндуцированной токсичности. Соединение 4 при темновой токсичности, сходной с таковой у аналога 10, имеет значительно большую фотоиндуцированную токсичность.

Таким образом, внедрение атома йода увеличивает соотношение $IC_{50}(\text{темн.})/IC_{50}(\text{фото})$, что позволяет считать соединения 1, 2 и 4 перспективными для дальнейшего исследования в качестве ФС.

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И НАКОПЛЕНИЕ АФК В РАСТЕНИЯХ СОИ РАЗНЫХ СОРТОВ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

О. С. Бердникова, П. И. Иванова, Е. Е. Яськова, А. Н. Ершова

Воронежский государственный педагогический университет,
394043, Воронеж, ул. Ленина, 86; *profershova@mail.ru*

Сою (*Glycine max*) называют перспективной бобовой культурой. Она ценится за высокое содержание в семенах белка, жира и витаминов, содержание которых значительно меняется у разных сортов. В естественных природных условиях на все растения постоянно воздействуют неблагоприятные факторы окружающей среды, включая дефицит кислорода. При этом в растениях происходит избыточное накопление активных форм кислорода (АФК), способных повреждать различные клеточные структуры. Для поддержания в клетках растений оптимальных концентраций АФК должна эффективно работать система антиоксидантной защиты, одним из компонентов которой является ферменты. Однако сортовые особенности различных растений при действии стрессовых факторов изучены недостаточно. В связи с этим продолжили исследование скорости накопления АФК в клетках разных сортов сои, определяя при этом и активность антиоксидантных ферментов каталазы и пероксидазы.

Объектом изучения являлись 10-дневные проростки сои сорта «Белгородская 48» и «Вышиванка», выращенные методом гидропоники на свету. Надземную часть проростков помещали в затемненные вакуум-эксикаторы, через которые пропускали разные газовые среды (воздух, азот, углекислый газ) в течение 3–24 часа. Содержание пероксида определяли ферментативным методом с *o*-дианизидином и рассчитывали на мг белка. Активность каталазы определяли спектрофотометрически при добавлении пероксида, а общей пероксидазы с использованием *o*-дианизидина и выражали в единицах ФЕ/мг белка, который определяли по Лоури. Опыты проводились не менее 3–5 раз в двух биологических повторностях, результаты рассчитывали методом математической статистики.

Было показано, что содержание пероксида водорода, наиболее стабильной формы АФК, в проростках сои сорта «Белгородская 48» в первые 3 часа опыта практически не изменялась. Лишь в 24 часа в условиях гипоксии его содержание составило 120%, а в CO₂-среде 144% от аэрируемых растений. В проростках сои сорта «Вышиванка» содержание пероксида водорода после небольшого увеличения начинало снижаться при гипоксии до 30%, но возрастало в CO₂-среде на 25% от условий аэрации.

Активность каталазы в проростках сои «Белгородская 48», постоянно возрастала и к концу опыта почти в 10 раз превышала уровень аэрируемых растений. При действии среды CO₂ активность каталазы после резкого возрастания снижалась, но оставалась выше, чем в контроле в 2,5 раза. Активность пероксидазы после снижения возрастала при гипоксии до 200%, а при действии CO₂-среды практически была на уровне контроля. В проростках сои сорта «Вышиванка» активность фермента каталазы возрастала в меньшей степени, в условиях гипоксии только на 20–30%, но в условиях CO₂-среды вдвое. Активность пероксидазы после повышения, начиналась снижаться как при гипоксии, так и действии CO₂-среды до 50–75% от аэрируемых растений.

Проведенные исследования показали, что в стабилизации содержания пероксида водорода при гипоксии в клетках сои основная роль принадлежит ферменту каталазе, активность которого менялась в большей степени, чем пероксидазы у обоих сортов сои. Накопление пероксида при гипоксии наблюдалось в большей степени в проростках сои «Белгородская 48», что свидетельствует о меньшей устойчивости этого сорта к гипоксическому стрессу, в отличие от более современного сорта сои «Вышиванка». Полученные данные можно использовать при подборе сортов к разным условиям выращивания, а также в селекционной работе наряду с другими биохимическими показателями.

**НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В РАСТЕНИЯХ
SANGUISORBA OFFICINALIS В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ КАРАБАШСКОГО
МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО КОМБИНАТА**

С. В. Беренцева, Н. В. Чукина, М. Г. Малева, Г. Г. Борисова

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19; berentseva.sus@gmail.com

Карабашский металлургический комбинат (КМК) – одно из ведущих предприятий цветной металлургии Челябинской области. Территория в окрестностях комбината уже более столетия подвергается воздействию его аэротехногенных выбросов. Основными поллютантами металлургического производства являются SO₂, CO, NO_x, полиметаллическая пыль, содержащая Cu, Pb, Cd, Zn, Fe и т.п. К числу доминирующих на этой территории видов травянистых растений, адаптированных к комплексу природно-техногенных факторов, относится *Sanguisorba officinalis* (кровохлебка лекарственная).

Цель исследования – изучение аккумулятивной способности по отношению к тяжелым металлам (ТМ) *S. officinalis* из двух локальных популяций на импактном (гора Золотая, 3 км от КМК) и фоновом (гора Егоза, 34 км от КМК) участках. Почвы изученных участков сформированы на ультраосновных (серпентинитовых) породах.

Исследование содержания ТМ в почве импактного участка выявило следующий порядок по мере его возрастания: Cr<Ni<Zn<Pb<Mn<Cu<Fe, в то время как на фоновом участке: Cu<Zn<Pb<Cr<Mn<Ni<Fe. Валовое содержание меди в почве импактного участка было в 64, цинка – в 8, свинца – в 7, железа – в 3 раза выше, чем в фоновом. Кратность превышения доступного содержания меди на импактном участке по сравнению с фоновым в среднем составляла 46 раз; цинка и свинца – 3,5 раза; никеля, марганца и хрома – 2,3 раза. Значения ПДК для почв были многократно превышены, хотя фоновые концентрации также были выше нормы, что обусловлено геохимическими особенностями данной местности.

В корнях *S. officinalis* из импактного участка средние значения содержания ТМ распределялись следующим образом: Mn<Pb<Ni<Cr<Cu<Fe<Zn. При этом на фоновом участке наблюдалась последовательность: Cu<Cr<Ni<Mn<Pb<Zn<Fe. Содержание в корнях Cu, Zn, Cr и Ni на импактном участке было выше по сравнению с фоновым в 11,0; 7,2; 2,5 и 1,7 раза соответственно, тогда как показатели Fe, Pb и Mn различались незначительно. Концентрации Cu, Zn и Ni в корнях *S. officinalis* вблизи КМК были существенно выше критических значений, токсичных для растения. Содержание Cu, Ni, Fe и Cr в листьях *S. officinalis* импактного участка было в среднем в 1,8 раз выше, чем в фоновом. По Zn и Pb различия между участками были незначительными, тогда как концентрация Mn в листьях растений вблизи КМК была в 1,6 раз ниже, чем на фоновом участке.

Все изученные ТМ, за исключением марганца, в основном аккумулировались в корнях *S. officinalis*. Очевидно, это объясняется наличием хорошо развитых барьерных механизмов, препятствующих транслокации ионов в надземную часть, что обеспечивает защиту фотосинтетических тканей и генеративных органов от токсического действия избытка ТМ. Причем, содержание Cu и Zn в корнях растений на импактном участке было в среднем в 9 раз выше, чем в листьях.

Значения коэффициента биологического накопления (КБН), рассчитанного как отношение содержания металла в листьях/корнях к его доступному содержанию в почве, в большинстве случаев были меньше 1. Исключением являлся хром: в среднем КБН в листьях *S. officinalis* составлял 3,6, а в корнях – 5,6.

Таким образом, под влиянием аэротехногенных выбросов КМК, содержащих тяжелые металлы и кислые газы, существенно возросли не только валовые, но и доступные концентрации ТМ в почве, что привело к их повышенному накоплению в органах *S. officinalis*, особенно в корнях.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИТОВ *NOCARDIA MANGYAENSIS* Н1

Е. С. Беркутова, И. В. Хиляс

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

Для большинства известных живых организмов на Земле необходим кислород, который принимает участие в разнообразных метаболических процессах, в ходе которых образуются активные формы кислорода (АФК): супероксиданион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), перекись водорода (H_2O_2), синглетный кислород (1O_2) и др. Помимо выполнения нормальных функций в качестве медиаторов внутриклеточных сигнальных путей, АФК инициируют реакции свободно радикального окисления, приводящие к химической модификации и разрушению биомолекул. Для нейтрализации АФК и других свободных радикалов в живых организмах используются антиоксиданты – вещества, обладающие способностью вступать в реакцию с ними, приводя их к частичной или полной инактивации. В настоящее время антиоксиданты применяются в медицине для подавления продукции АФК при различных заболеваниях и в биотехнологическом производстве для продления сроков хранения пищевых продуктов. Целью данной работы явилось изучение антиоксидантной активности метаболитов сидерофор-продуцирующего штамма *Nocardia mangyaensis* Н1.

Для получения метаболитов штамм Н1 культивировали 72ч на жидкой минимальной среде с глюкозой в качестве единственного источника углерода и энергии. Метаболиты экстрагировали с помощью сорбента и очищали методом ВЭЖХ. Исследование антиоксидантной активности пяти ВЭЖХ-очищенных фракций *N. mangyaensis* Н1 проводили с использованием реагента Amplex Red, который детектирует содержание перекиси водорода в образцах.

Анализ показал, что все исследуемые фракции (время удерживания 2, 3, 9–10 и 11 мин) снижают уровень перекиси в смеси. Исключением является фракция со временем удержания 14 мин, которая не влияет на уровень перекиси в реакционной смеси.

На основании полученных результатов был сделан вывод, что все исследуемые метаболиты *N. mangyaensis* Н1, продуцируемые в условиях дефицита железа в культуральную среду, обладают антиоксидантными свойствами. Дальнейшее изучение сидерофоров штамма *N. mangyaensis* Н1 позволит установить их химическую структуру, установить механизм действия в отношении АФК, и в будущем, использовать свойства метаболитов штамма Н1 в медицине, пищевой промышленности и биотехнологии.

Работа выполнена за счет стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ НА БЕЛКОВЫЙ И УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Э. Р. Богер, С. В. Трофимова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
evelinaboger1@gmail.com

В последние два десятилетия возможность применения плазменных технологии в биомедицинских целях активно изучается. К настоящему моменту приборы на основе плазмы разрядов успешно внедряются в такие области медицины как стоматология, регенеративная медицина, противоопухолевая терапия. Использование излучения плазмы разряда представляется наиболее перспективным направлением, так как является неинвазивным и не приводит к нагреванию тканей. Данных о влиянии плазмы искрового разряда на организм в целом к настоящему моменту недостаточно для понимания механизмов действия.

В связи с вышесказанным целью работы стало исследование влияния излучения газоразрядной плазмы на показатели белкового и углеводного обменов интактных животных.

Формирования излучения плазмы искрового разряда проводили с использованием устройства со следующими характеристиками: 100 мкс – длительность одного импульса, 11 кВ – напряжение, $5,9 \cdot 10^{-2}$ Дж – энергия в одном импульсе, 10 Гц – частота импульсов. Оптический диапазон излучения – 200–800 нм с максимумом при 220 нм.

Эксперимент проведен на белых беспородных крысах, которые были распределены на 2 группы: интактные крысы без обработки; интактные крысы, обработанные излучением плазмы искрового разряда. Обработку проводили в течение трех суток по 10 минут и через 2 суток после окончания серии обработок гепаринизированных животных декапитировали под эфирным наркозом. Плазму крови для анализа получали путем центрифугирования цельной крови при 3000 об./мин. В плазме крови определяли концентрацию глюкозы, концентрацию общего белка, концентрацию креатинина. Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом при длине волны 500 нм. Концентрацию общего белка определяли биуретовым методом при длине волны 540 нм. Концентрацию креатинина в плазме крови определяли методом Яффе по конечной точке при длине волны 500 нм.

Установлено, что после обработки излучением плазмы искрового разряда интактных крыс в три раза в течение 10 минут происходит снижение концентрации глюкозы на 5 %, общего белка на 11%, креатинина на 12% относительно необработанных животных. Выявленные отклонения показателей белкового и углеводного обмена относительно нормы не были статистически значимыми. Таким образом, можно предположить, что воздействие излучения плазмы искрового разряда в изученном режиме не инициирует нарушений в метаболических путях углеводов и белков.

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА ЦЕЛОСТНОСТИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ ОРГАНЫХ МАТРИКСОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ МИКРООКРУЖЕНИЯ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА

А. Ю. Богомолова^{1, 2}, П. С. Ермакова², Е. И. Черкасова^{1, 2}, А. В. Кашина²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
baleksandra@icloud.com

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

Трансплантация островков Лангерганса (ОЛ) поджелудочной железы является современным методом клеточной терапии, позволяющим добиться нормогликемии и избежать серьезных осложнений при лечении пациентов с сахарным диабетом. В настоящее время одним из перспективных подходов в тканевой инженерии и регенеративной медицине, является использование децеллюляризованных тканей в качестве биоинженерных конструкций. Получение бесклеточных органных матриксов, или децеллюляризация, – процесс, направленный на удаление клеток из ткани или целого органа, с сохранением архитектоники и микроциркуляторного русла. Разработка протоколов децеллюляризации должна учитывать структурную особенность органа, а именно плотность и толщину исходной ткани. Децеллюляризованные (ДЦЛ) матриксы используются в тканевой инженерии и регенеративной медицине для создания биоэквивалентов поврежденных тканей и органов человека при различных заболеваниях. Биоэквиваленты, полученные на основе ДЦЛ матриксов и ОЛ, применяются в качестве временной замены эндокринной функции поджелудочной железы, а также стимулируют процессы внутренней регенерации.

Целью нашей работы явился подбор и отработка протоколов получения децеллюляризованных матриксов органов свиньи, а также оценка их целостности для создания микроокружения ОЛ.

В качестве объектов исследования использованы следующие органы: легкие и поджелудочная железа свиньи породы Визинау. На основании литературных данных для получения ДЦЛ матриксов выбран оптимальный протокол. Для этого фрагменты органов, размером не более 1x1 см, последовательно выдерживались в 0,5% растворе Triton X-100 – 1 час, 0,5% растворе SDS (додецилсульфат натрия) – 1 час, 1% растворе SDC (дезоксихолат натрия) – 1 час и 0,075% растворе SDS – 24 часа. Сохранность структуры матрикса, а также качество удаления клеточного компонента оценивали путем приготовления гистологических препаратов согласно стандартной методике окрашивания гематоксилин-эозином. Количество ядер, для оценки клеточной чистоты полученных матриксов, анализировали с использованием окрашивания DAPI.

В ходе работы были получены бесклеточные органные матриксы органов свиньи. При проведении процедуры децеллюляризации наблюдалось помутнение децеллюляризирующих сред, что свидетельствовало о вымывании клеточного компонента в обоих органах. Однако по результатам работы установлено, что используемая методика подходит для проведения децеллюляризации легкого, показано высокое сохранение его микроструктуры матрикса и незначительное количество ядер, свидетельствующее об успешном проведении децеллюляризации. В то же время методика не подходит для проведения децеллюляризации поджелудочной железы, поскольку при визуализации матрикса наблюдалось нарушение структуры коллагеновых волокон и сохранение большого количества клеточной компоненты. В дальнейшем предполагается усовершенствование методик получения ДЦЛ-матриксов поджелудочной железы и легкого, а также создание биоэквивалентов на основе ДЦЛ матриксов легкого и поджелудочной железы и ОЛ.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГЗ № АААА-А20-120022590096-6 «Создание технологии инкапсуляции островков поджелудочной железы для компенсации абсолютных инсулин-дефицитных состояний».

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА ЯДЕРНОЙ И ЦИТОЗОЛЬНОЙ ФРАКЦИЙ БЕЛКОВ ОТДЕЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА *Е. В. Бодякина*², *Ю. М. Пахомова*^{1, 2}, *Т. Ф. Ковалева*¹, *И. В. Мухина*¹, *Н. С. Максимова*¹

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

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
len.bodyakschina2016@yandex.ru

При изучении особенностей протеостаза нервных клеток в процессе развития нейродегенеративных заболеваний большое значение имеет субклеточная локализация активных и неактивных форм регуляторных белков, в частности – кофилина и взаимосвязанного с ним F- и G-актина. Субклеточное фракционирование достаточной степени чистоты и эффективности из тканей головного мозга мышей позволяет изучать и характеризовать изменения распределения белков цитоскелета как элемента патогенеза развития болезни Альцгеймера.

Целью работы был подбор и адаптация протокола субклеточного фракционирования тканей головного мозга мышей с последующим изучением распределения белков цитоскелета в норме и при болезни Альцгеймера (БА) в ответ на воздействие разнонаправленных ингибиторов убиквитин-протеосомальной системы (УПС).

В работе использовали кору и гиппокамп мышей линии 5XFAD с генетически детерминированной БА, а также здоровых животных, выделенные на 17й день после стереотаксического биполушарного интрагиппокампального введения ингибитора протеасомы бортезомиба, либо ингибитора деубиквитилирующих ферментов PR-619. Контрольной группе вводился эквивалентный объем фосфатно-солевого буферного раствора. Анализ качества выделения белков проводился во время предварительной проверки методики проводился путем электрофореза в полиакриламидном геле с последующей окраской по методу Кумасси, для контроля кросс-контаминации фракций осуществлялся иммуноблоттинг с антителами к белкам, специфически локализованному в ядре (ADAR-2) и цитоплазме (GAPDH). Изучение изменения локализации целевых белков также проводилось путем иммуноблоттинга.

Нами был проведен выбор и модернизация методики субклеточного фракционирования на основе протокола, предложенного командой под руководством Гиусты (Giusti, 2009). Было показано увеличение уровня актина, а также высокомолекулярных протеоформ кофилина массой около 100 кДа в ядерной фракции, полученной из гиппокампа мышей с БА, в сравнении со здоровыми животными. Аналогичная картина наблюдалась при ингибировании протеасомы в гиппокампе здоровых животных. Также было продемонстрировано изменение распределения K63 и K48-ассоциированных цепей убиквитина различных молекулярных масс в ответ на ингибирование компонентов УПС, значительно отличающееся в тканях головного мозга нормальных животных и животных с БА. Интересно отметить, что несмотря на отсутствие непосредственного воздействия на кору головного мозга, тенденции изменений в ней были аналогичны наблюдаемым в ткани гиппокампа.

Нами была валидирована методика субклеточного фракционирования тканей головного мозга мышей, проанализировано распределение различных протеоформ белков цитоскелета в норме и при БА в ответ на изменение активности УПС. Полученные данные будут служить основой дальнейших исследований механизмов контроля протеостаза в норме и при нейродегенеративных заболеваниях.

ВЫДЕЛЕНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ИЗ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ И ИХ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ

***А. М. Болобан*¹, *А. Б. Воловецкий*², *П. А. Малинина*³, *А. В. Масленникова*^{1,3}**

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
boloban-nastya@mail.ru

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8

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

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) представляют собой один из этапов каскада метастазирования. ЦОК можно обнаружить в крови как на ранних стадиях канцерогенеза, так и спустя длительное время после удаления первичной опухоли. Благодаря своей способности уходить из-под надзора иммунной системы, они более склонны к формированию отдаленных метастазов. Выделение циркулирующих опухолевых клеток из крови пациентов путем «жидкостной биопсии» является многообещающим шагом на пути к персонализированной терапии злокачественных новообразований, а изучение молекулярно-генетических характеристик ЦОК - необходимым для оценки прогноза течения опухолевого процесса, персонализированной терапии и мониторинга лечения. Целью работы было выделение и характеристика циркулирующих опухолевых клеток из образцов периферической крови больных диссеминированным немелкоклеточным раком легкого.

Для исследования использовалась периферическая кровь 5 пациентов (9-10 мл) с диссеминированным немелкоклеточным раком легкого. Кровь больных лизировали буфером (MACS® Separation Buffer, Miltenyi Biotec) в соотношении кровь : буфер 1:3 и центрифугировали с сохранением осадка. Далее осадок разбавляли раствором фосфатно-солевого буфера (PBS) и сепарировали полученную суспензию с помощью спирального микрофлюидного чипа. Обогащенную ЦОК суспензию с использованием цитоцентрифуги (500 g, 9 минут) наносили на предметное стекло и окрашивали двумя разными способами с использованием флуоресцентных антител и монтирующей среды, содержащей DAPI (Abcam).

В первом варианте применялись антитела к цитокератину и общему лейкоцитарному антигену: mouse Anti-pan Cytokeratin 3 antibody [PCK-26] (Abcam); Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 488) (Abcam); rabbit Anti-CD45 antibody (Abcam); Goat Anti-Rabbit IgG H&L (AlexaFluor® 594) (Abcam). Во втором - дополнительно проводили окрашивание на молекулы клеточной адгезии эпителия (EpcAM): Epcam (Alexa Fluor® 488) с заменой Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 488) (Abcam) на Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 568) (Abcam).

Флуоресценцию регистрировали на конфокальном лазерном микроскопе Carl Zeiss 710 duo (Carl Zeiss, Germany).

В результате работы ЦОК были обнаружены во всех исследуемых образцах периферической крови пациентов. Иммуноцитохимическое исследование с антителами к цитокератину и молекулам клеточной адгезии эпителия позволило подтвердить эпителиальную природу выделенных клеток. Использование антител к специфическому для лейкоцитов крови антигену (CD-45, общий лейкоцитарный антиген) позволило распознать их среди всех выделенных клеток. Окрашивание с помощью DAPI показало наличие ядер в клетках. Это говорит о том, что опухолевые клетки в процессе сепарации не разрушаются.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что сепарация является эффективным методом для выделения циркулирующих опухолевых клеток из образцов периферической крови пациентов с онкологическими заболеваниями, а окрашивание флуоресцентными антителами позволяет зафиксировать и идентифицировать эти клетки. Дальнейшее совершенствование технологии может способствовать внедрению в клинику персонализированного подхода к лечению больных злокачественными новообразованиями.

Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ №19-34-60034.

КОМПЕНСАЦИОННАЯ РОЛЬ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЙ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКА РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НАСЕЛЕНИЯ НИЖНЕГО НОВГОРОДА

А. Д. Большакова, Н. И. Зазнобина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
anzhela.bolschakova@yandex.ru

Зеленые насаждения в городе играют важную роль в улучшении состояния окружающей среды, а также поддержании психического и физического здоровья населения. Озеленение улучшает микроклимат мегаполиса, приближая его к оптимальному: снижается уровень шума и температура воздуха, повышается влажность, преобразуются воздушные потоки, усиливается газообмен, снижается загазованность. Последнее наиболее актуально, в связи с повышенным уровнем автомобилизации. Цель работы: оценить снижение риска развития патологий органов верхних дыхательных путей у населения Нижнего Новгорода в связи с улавливанием поллютантов древесной растительностью на крупнейших перекрестках города.

В ходе работы для расчета концентрации выбросов поллютантов от автотранспорта проведен учет автомобильного трафика согласно ГОСТ Р 56162-2019 «Методика проведения натурных обследований интенсивности потоков автотранспортных средств на автомобильных дорогах», рассчитан риск здоровью населения от выбросов автотранспорта по 2.1.10.1920-04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду», проведена оценка компенсационной роли зеленых насаждений по снижению риска развития заболеваемости органов дыхания у жителей Нижнего Новгорода с помощью «i-Tree Eco Dry Deposition Model Descriptions».

Учет автомобильного трафика осуществлялся в Нагорной (пл. Лядова, пл. Горького, пл. Свободы, пл. Сенная, пл. Маркина, пл. Советская) и Заречной (пл. Революции, пл. Комсомольская) частях Нижнего Новгорода. Рассчитаны значения концентраций выбросов поллютантов от автотранспорта на особо опасных участках дороги для $CO = 0,432 \div 0,57 \text{ мг/м}^3$, для $NO_2 = 0,004 \div 0,005 \text{ мг/м}^3$, для $SO_2 = 0,025 \div 0,034 \text{ мг/м}^3$, для $O_3 = 0,004 \div 0,005 \text{ мг/м}^3$, для $PM_{2.5} = 0,134 \text{ мг/м}^3$, для $PM_{10} = 0,27 \text{ мг/м}^3$.

На исследуемых объектах была проведена инвентаризация древесного покрова по методике «i-Tree Eco» и рассчитаны значения коэффициента улавливания поллютантов. Улучшение состояния атмосферного воздуха за счет зеленых насаждений составило 9% (пл. Революции), 10% (пл. Комсомольская), 13% (пл. Маркина), 14% (пл. Лядова, пл. Сенная), 17% (пл. Горького, пл. Советская), 18% (пл. Свободы).

По результатам значений концентраций выбросов поллютантов от автотранспорта (*в случае отсутствия древесной растительности*) оценен неканцерогенный риск развития заболеваемости населения. Рассчитаны значения коэффициентов опасности неканцерогенных веществ: $HQ_{PM_{2.5}} = 0,85$, $HQ_{PM_{10}} = 1$, $HQ_{CO} = 0,32$, $HQ_{NO} = 0,66$, $HQ_{NO_2} = 1$, $HQ_{SO_2} = 0,5$, $HQ_{O_3} = 0,8$. Индекс опасности неканцерогенных веществ для органов верхних дыхательных путей $HI = 5,19$.

По результатам значений концентраций выбросов поллютантов от автотранспорта (*при существующем на данный момент озеленении объектов исследования*) оценен неканцерогенный риск развития заболеваемости населения. Рассчитаны значения коэффициентов опасности неканцерогенных веществ: $HQ_{PM_{2.5}} = 0,7$, $HQ_{PM_{10}} = 0,91$, $HQ_{CO} = 0,19$, $HQ_{NO} = 0,53$, $HQ_{NO_2} = 0,84$, $HQ_{SO_2} = 0,35$, $HQ_{O_3} = 0,72$. Индекс опасности неканцерогенных веществ для органов верхних дыхательных путей $HI = 4,24$.

Снижение риска развития патологий органов верхних дыхательных путей у населения Нижнего Новгорода за счет улавливания поллютантов древесной растительностью в среднем по городу составило 18,3%.

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИОННЫХ РЕЗЕРВОВ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ СТУДЕНТОВ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОБУЧЕНИЯ

И. В. Боcharин^{1, 2}, М. С. Гурьянов², А. К. Мартусевич^{1, 2}, А. А. Шорохов²

¹Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *bocharin.ivan@mail.ru*

²Приволжский исследовательский медицинский университет, 603000, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

В настоящее время важнейшей проблемой в системе высшего образования является адаптация организма студентов в процессе всех этапов учебной деятельности. Усиление интенсивности учебного процесса в совокупности со снижением двигательной активности сопровождается частыми функциональными изменениями в работе сердечно-сосудистой, других систем организма, в связи с этим, необходим мониторинг функционального состояния организма на всех этапах обучения для профилактики дизадаптивных состояний. Цель – изучение параметров гемодинамики и показателей variability сердечного ритма студентов медицинского университета в состоянии физиологического покоя.

В исследовании участвовали 134 студента мужского пола Приволжского исследовательского медицинского университета, дифференцированные первый, второй, и третий курсов обучения. ЭКГ-сигнал регистрировался во втором стандартном отведении, с продолжительностью 128 кардиоинтервалов, с применением системы спортивного тестирования «Medical Soft» (вариант «MS FIT - 01», Россия). Для мониторинга использовались индикаторы системной гемодинамики: систолическое и диастолическое артериальное давление (САД, ДАД), частота сердечных сокращений (ЧСС), ударный объем (УО), сердечный выброс (СВ), общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), сердечный индекс (СИ). В тоже время аппаратный комплекс расчета определил статистические и спектральные показатели variability сердечного ритма (ВСР). Анализ данных осуществлялся с учетом возрастных нормативов. Обработку результатов производили с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Statistica 6.1.

По уровню САД и ДАД студенты не отличались от возрастной нормы, при этом студенты третьего курса показали более высокое значение данного параметра ($134,8 \pm 7,4$ мм. рт. ст.). Аналогичная изменения зафиксированы и в уровне ЧСС ($82,3 \pm 5,4$ уд/мин). При этом определены более низкие значения УО, СВ и СИ у данного контингента лиц ($61,48 \pm 9,35$ мл, $6,1 \pm 0,4$ л/мин и $2,8 \pm 0,5$ л/мин/м²), что отражается в увеличении ОПСС ($1677,2 \pm 212,38$ дин·с·см⁻⁵) относительно студентов первого и второго курсов. Неоднородная характеристика отмечена и в изучении показателей ВСР. Отмечается смещение SDNN к нижней границе норматива ($43,25 \pm 1,53$ мсек), уменьшение pNN50 и TP ($15,8 \pm 1,43$ % и $1523,7 \pm 11,56$ мс²), что полностью соотносится со спектральными индикаторами ВСР. Относительные значения в области низких и высоких частот у третьекурсников составили $36,2 \pm 0,8$ и $25,1 \pm 0,7$ %. В то же время у них преобладание оченьнизкочастотной мощности спектра ($39,47 \pm 0,6$ %). Это отражается и в смещении индекса вегетативного равновесия в сторону симпатической стимуляции ($2,7 \pm 0,1$ усл. ед.) и индекса равновесия ($161,3 \pm 8,4$ усл. ед.) у студентов третьего курса, что характеризует наличие у них состояния, близкого к дизадаптации.

Исследование показателей системной гемодинамики продемонстрировало смещение гемодинамических индикаторов в зависимости от курса обучения. По мере его увеличения установлено снижение сократительной способности миокарда с одновременным усилением тонуса сосудов и увеличением систолического артериального давления. В тоже время статистические параметры ВСР показали уменьшение variability кардиоритма, а спектральные – увеличение симпатического вклада вегетативной нервной системы и преобладание центрального контура регуляции ритма сердца. Следовательно, более низкими адаптационными резервами сердечно-сосудистой системы обладают студенты третьего курса.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ *ERCC5* И *CDKN1A* С ВЫЖИВАЕМОСТЬЮ БОЛЬНЫХ ПРИ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ РАННЕГО ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

П. К. Бреннер¹, М. А. Капралова¹, О. О. Гордеева², Д. С. Ходырев³, С. В. Хохлова⁴,
И. В. Колядина⁴, Т. М. Заварыкина¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119336, Москва, ул. Косыгина, 4;
brenner123@mail.ru

²НМИЦ Онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115522, Москва,
Каширское шоссе, 23

³ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА
России, 115682, Москва, Ореховый бульвар, 28

⁴НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, 117198, Москва,
ул. Академика Опарина, 4

Рак молочной железы (РМЖ) является самым частым онкологическим заболеванием среди женщин. Наиболее агрессивным подтипом РМЖ является тройной негативный вариант, при котором отсутствуют известные мишени для таргетной терапии и ведущим методом лечения по-прежнему остается химиотерапия (ХТ), в том числе с включением производных платины. Поиск маркеров эффективности платиносодержащей химиотерапии при тройном негативном РМЖ является актуальным, позволит проводить селекцию пациенток для проводимого лечения, улучшить непосредственные и отдаленные результаты и избежать токсичности. Цель работы – изучение полиморфных маркеров генов *ERCC5* (rs17655) и *CDKN1A* (rs1801270) для оценки чувствительности раннего тройного негативного РМЖ к платиносодержащей химиотерапии.

Были изучены образцы крови 63 пациенток с ранним тройным негативным РМЖ, получавших платиносодержащую неоадьювантную ХТ (доцетаксел или паклитаксел в комбинации с карбоплатином/дисплатином). Полиморфные маркеры генов были исследованы методом ПЦР в реальном времени с флуоресцентными аллельспецифичными зондами на приборе CFX96 (Bio-Rad, США). Результаты определения маркеров сопоставляли с клиническими данными (безрецидивной и общей выживаемостью, БРВ и ОВ, соответственно) с использованием метода Каплана-Мейера и log-rank теста.

Медиана времени наблюдения на момент анализа результатов составила 27,8 (6,4–66,9) мес. При рассмотрении маркера rs1801270 гена *CDKN1A* выявлены значимые различия в БРВ в период от 15 до 60 мес. наблюдения ($p=0,046$), медиана БРВ при носительстве аллеля *A* составляла 16,6 мес., при отсутствии аллеля *A* – 32,0 мес. Для маркера rs17655 гена *ERCC5* выявлено уменьшение медианы БРВ при носительстве аллеля *C* (20,0 мес.) по сравнению с больными, у которых этот аллель отсутствовал (35,1 мес.). Различия были статистически значимы в интервале от 15 до 60 мес. наблюдения. При рассмотрении ОВ для изученных маркеров различий обнаружено не было.

Выявлена связь изученных полиморфных маркеров генов с БРВ у пациенток с ранним тройным негативным РМЖ, что может позволить при дальнейшем изучении оптимизировать режимы неоадьювантной химиотерапии.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПЕРОКСИРЕДОКСИНОВ В КЛЕТКАХ ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ A431 ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ БЕТА-ИЗЛУЧЕНИЕМ И ПОТОКОМ ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕКТРОНОВ

Д. Д. Брюхова, Т. А. Здобнова, С. С. Сороко, Н. Ю. Шлягина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
darinaridel1203@icloud.com

В основе повреждающего действия ионизирующего излучения лежит образование активных форм кислорода и последующее возникновение локального окислительного стресса. Изменение концентрации активных форм кислорода, в частности пероксида водорода, в сторону увеличения или уменьшения играет важную роль в дальнейшей «судьбе» облученной клетки. Одно из ключевых звеньев регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза клетки — пероксиредоксины — большое семейство тиолзависимых пероксидаз, которые катализируют восстановление пероксида водорода до воды и таким образом регулируют его уровень в клетке. В данной работе мы изучили изменение уровня экспрессии генов пероксиредоксинов в клетках эпидермоидной карциномы A431 через разное время после воздействия ионизирующего излучения.

Для моделирования высокоинтенсивного режима облучения использовали линейный ускоритель Novalis Tx. Дозу облучения контролировали временем. При моделировании низкоинтенсивного режима облучения использовали бета-эмиссионные закрытые препараты Sr-Y-90. Дозу облучения контролировали временем и мощностью источника. Изменение экспрессии генов пероксиредоксинов в клетках оценивали через различные промежутки времени после воздействия с помощью метода ПЦР «в реальном времени», результаты анализировали по методу $\Delta\Delta C_t$. В качестве контроля использовали необлученные клетки. В качестве эталонного гена использовали β -актин.

Определение уровней экспрессии пероксиредоксинов позволило оценить уровень и динамику развития окислительного стресса, вызванного ионизирующим излучением различной мощности дозы, а также приблизится к более глубокому пониманию механизмов ответа клетки на действие корпускулярного ионизирующего излучения.

Работа выполнена в рамках Госзадания Минобрнауки России № 0729-2020-0061

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ ОСНОВНЫХ УРОПАТОГЕНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ TRITON X-100 И. А. Будруев¹, А. Э. Антонян², Н. И. Игнатова², О. С. Стрельцова², В. В. Елагин², В. А. Каменский²

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ivan.budrujev@gmail.com

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

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются одними из наиболее частых инфекционных заболеваний. Использование антибиотиков для лечения ИМП приводит к развитию резистентности основных уропатогенов. Антимикробная фотодинамическая инаktivация – альтернативный метод воздействия, разрабатываемый для борьбы с патогенными микроорганизмами устойчивыми к антибиотикам.

Целью работы является оценка эффективности инаktivации за счёт установления логарифмического показателя снижения КОЕ фотодинамической инаktivации *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* при использовании неионного детергента Triton X-100 с использованием Фотодитазина.

Фотодинамическое воздействие проводилось на культурах, выделенных из камней мочевыводящей системы пациентов. В качестве фотосенсибилизатора использовался Фотодитазин, (5 мг/мл), для облучения использовали лазер с длиной волны 652 нм и выходной мощностью 400 мВт. В качестве контроля использовали культуры бактерий, не подвергавшиеся облучению с добавкой неионного детергента и Фотодитазина.

Свежую суточную культуру, выращенную на питательном бульоне (37°C), разводили по МакФарланду 0,5 ($1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл) в фосфатно-солевом буфере. Для проведения исследования к разбавленной культуре, добавляли 5% объемную долю Triton X-100. Затем в каждый образец добавляли Фотодитазин до концентрации 0,5 мг/мл и оставляли инкубироваться в темноте на 15 минут. Далее 100 мкл образца помещали в лунки 96-луночного планшета и облучали 9 минут. Суспензию высевали на чашки Петри с питательным агаром и культивировали в термостате (37°C, 18 ч). Подсчёт количества колониеобразующих единиц (КОЕ) производился по фотографиям в программе ImageJ. Затем логарифмический показатель снижения считали в Excel относительно контроля.

В контрольных образцах, содержащих Triton X-100 и Фотодитазин, но не подвергавшихся облучению не происходило уменьшения КОЕ, что свидетельствует об отсутствии темновой цитотоксичности их совместного действия. Фотодинамическая инаktivация *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* в присутствии 5 об.% Triton X-100 приводила к значению показателя логарифмического снижения КОЕ 3,98; 4,10; 1,16; 4,97 соответственно. Фотодинамическая инаktivация *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* без добавления Triton X-100 приводила к значению показателя логарифмического снижения КОЕ 0,27; 2,11; 0,08; 1,56 соответственно.

В ходе работы установлено, что Triton X-100 значительно усиливал эффективность фотодинамической инаktivации. Фотодинамическая инаktivация показала наибольший эффект на культуре *P. aeruginosa*. Высокая эффективность была достигнута при облучении культур *E. coli* и *P. mirabilis*. Эффективность инаktivации *K. pneumoniae* была существенно меньше.

СВОЙСТВА СИНТЕЗИРОВАННЫХ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ (ZnO , Ag_2O , Fe_2O_3 , Al_2O_3) И ПОЛИ (ЛАКТИД-КО-ГЛИКОЛИДА) / БОРОСИЛОКСАНА.

Д. Е. Бурмистров¹, А. В. Симакин¹, Р. М. Саримов¹, М. Е. Асташев¹, С. В. Гудков^{1,2}

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119911, Москва, ул. Вавилова, 38; dmitriiburmistroff@gmail.com

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

В настоящее время растёт интерес к наночастицам (НЧ) оксидов металлов и соединениям на их основе как перспективным материалам, проявляющим антибактериальные свойства. Методом лазерной абляции в деионизированной воде были синтезированы НЧ оксидов металлов (ZnO , Ag_2O , Fe_2O_3 , Al_2O_3). Полученные коллоидные растворы НЧ являлись стабильными. Максимумы распределений ζ -потенциала полученных коллоидных растворов НЧ составляли 50, -25, 20, 20 мВ для НЧ Al_2O_3 , ZnO , Ag_2O_3 и Fe_2O_3 , соответственно. Состав и морфологические особенности полученных НЧ оценивались при помощи энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX), спектрометрии и просвечивающей электронной микроскопии. Средний гидродинамический диаметр НЧ оценивался с помощью метода динамического светорассеяния (DLS) и составлял 45, 47, 35 и 53 нм для Al_2O_3 , ZnO , Ag_2O_3 и Fe_2O_3 , соответственно. Распределения размеров НЧ были одномодальными. На основе полученных коллоидных растворов НЧ и полимеров поли (лактид-ко-гликолида) (ПЛГА) и боросилоксана были получены пленки композитных материалов с конечными концентрациями НЧ 0.001, 0.01, 0,1%. Методом модуляционно-интерференционной микроскопии оценивалось распределение НЧ в составе полимера. Было установлено, что НЧ распределены в объеме полимерной матрицы неоднородно. Отмечалось формирование кластеров НЧ, размер которых увеличивался с ростом концентрации допанта. Увеличение концентрации НЧ не приводило к изменению реологических характеристик композитного материала. Было показано, что все полученные нанокompозиты проявляли бактериостатические свойства в отношении *E. coli*. Важно отметить, что данный эффект был обнаружен при использовании композитов с минимальной концентрацией НЧ в составе. Данный эффект обусловлен образованием перекиси водорода, гидроксильных радикалов и долгоживущих реактивных форм белков; полученные композиты обладали генотоксическим действием, приводили к образованию 8-оксогуанина в ДНК *in vitro* при воздействии высоких температур. Полимерные пленки, не содержащие НЧ, не оказывали эффекта на рост бактериальных колоний. Также, были проведены исследования цитотоксичности полученных нанокompозитов в отношении клеток линии SH-SY5Y. Поверхность пленок композитных материалов как на основе боросилоксана, так и ПЛГА, подходила для роста и развития эукариотических клеток. Благодаря низкой цитотоксичности и бактериостатическим свойствам полученные композитные материалы представляют большой интерес для применения в качестве упаковки в пищевой промышленности, антибактериальных покрытий, сухого дезинфицирующего средства, а также в качестве компонентов протезов.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на крупные научные проекты по приоритетным направлениям научно-технического развития (грант № 075-15-2020-775).

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА МАТЕРИНСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИИ DAT-НЕТ

А. А. Буянова, И. И. Садртдинова

Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;

Shura.buyanova@list.ru

Послеродовая депрессия является одной из наиболее актуальных проблем современного общества, ее широкое распространение связано с тесной связью с многочисленными стрессовыми факторами. Крысы линии DAT-НЕТ характеризуются нарушениями дофаминового транспортера (dopamine transporter, DAT), что приводит к стрессоподобному состоянию, следовательно, данная линия может служить моделью материнской депрессии. Цель работы – выявить влияние стресса на проявление материнской реакции самок крыс линии DAT-НЕТ.

Работа была проведена в установке «открытое поле» на половозрелых самках крыс линии DAT-НЕТ ($n=10$, $m=200-250$ гр.) на 6-8 дни после родов (день родов – 0-ой). Тест состоял из 3 этапов: 1) при красном свете (безопасная среда, норма) регистрировали познавательную активность самки без детеныша; 2) при красном освещении фиксировали параметры материнского поведения (латентный период первого подхода и переноса детенышей и их общее количество); 3) при ярком освещении (фактор стресса) оценивали материнское поведение. Полученные результаты обрабатывались в программе «STATISTICA v.7.0» (Stat Soft Inc., США).

Нами было обнаружено, что с 6-го по 8-й день после родов в условиях нормы у самок крыс линии DAT-НЕТ общее количество подходов к детенышам увеличилось незначительно с $3,26 \pm 0,08$ до $3,36 \pm 0,05$, а общее количество их переносов снизилось с $3,10 \pm 0,13$ до $2,73 \pm 0,03$ ($p < 0,05$). Самки крыс линии DAT-НЕТ к 8-му дню быстрее находили детенышей: в условиях стресса за $13,28 \pm 0,73$ с., а в безопасной среде (красный свет) за $28,02 \pm 2,67$ с. ($p < 0,05$). При ярком свете самки крыс линии DAT-НЕТ быстрее осуществляют перенос детеныша ($p < 0,05$). В условиях яркого освещения с 6-го по 8-й день после родов показатели подходов и переносов снижались с $3,15 \pm 0,42$ до $2,23 \pm 0,09$ и с $3,12 \pm 0,05$ до $1,82 \pm 0,27$ соответственно ($p < 0,05$), что может служить доказательством процессов обучения и адаптации.

Таким образом, стресс оказывает стимулирующее действие на материнское поведение самок крыс линии DAT-НЕТ, проявляющееся в снижении латентного периода первого подхода и быстрого переноса детенышей к 8-му дню.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНВАЗИИ В КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ШТАММОВ *LISTERIA MONOCYTOGENES*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

В. С. Варламова, С. А. Ермолаева

Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального исследовательского центра вирусологии и микробиологии», 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3; varlamova98@inbox.ru

Listeria monocytogenes – факультативный внутриклеточный патоген, один из основных контаминантов пищевых продуктов, вызывающий заболевание, поражающее людей с ослабленным иммунитетом, называемое листериозом. Листериоз – инфекция пищевого происхождения, критической точкой развития которой является инвазия в энтероциты и пересечение эпителиального барьера кишечника. Вспышки заболевания приобретают характер эпидемий, включая десятки и сотни заболевших, при этом летальность может достигать 30–35%. Для характеристики филогенетического положения штаммов *Listeria monocytogenes* и эпидемиологических целей используют метод мультилокусного сиквенстипирования (MLST). Целью настоящей работы явилось филогенетическая характеристика методом MLST и оценка инвазивных способностей штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из продуктов питания.

Материалом исследования служили 10 штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из сырого мяса и птицы. Исследуемые штаммы хранились в «Государственной коллекции микроорганизмов, вызывающих опасные, особо опасные, в том числе зооантропонозные и не встречающиеся на территории страны болезни животных», функционирующей на базе ФГБНУ ФИЦВиМ (Вольгинский, Россия), в коллекции Научно-исследовательского центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России (Москва, Россия). В данной работе были использованы методы качественной полимеразной цепной реакции, горизонтального электрофореза в агарозном геле, секвенирование ДНК и инвазии бактерий в эукариотическую линию клеток.

Установлено, что среди семи выявленных сиквенс типов часто встречаемыми оказались ST7, ST9, ST37, которые составили по 20% каждый от общего числа изолятов. ST7 и ST1227 отличались между собой по одному маркерному гену, но входили в состав седьмого клонального комплекса CC7. Данный клональный комплекс оказался наиболее распространенным и составлял 30% от всех исследуемых штаммов. ST2 отличался от всех предыдущих всеми аллелями генов и входил в состав CC2, который оказался наименее распространенным и составлял всего 10%. Установлено, что исследуемые штаммы *L. monocytogenes* принадлежали к трём основным филогенетическим группам. Первая группа включала четыре подгруппы. Представители первой подгруппы относились к ST18 и ST1544, входящие в CC18. Вторая подгруппа содержала один штамм, принадлежащий к ST2, характеризующийся другими аллелями генов. Штаммы третьей подгруппы относились к ST9, а четвертой – к ST37. Во вторую группу входили штаммы, принадлежащие к ST7. Третью группу сформировал штамм, относящийся к ST1227. Представители второй и третьей филогенетической группы принадлежали к наиболее часто встречаемому клональному комплексу (CC7). В результате изучения инвазивных способностей *L. monocytogenes* выявили, что наибольшую способность проникать в эукариотические клетки HEp-2 показали штаммы, принадлежащие к доминантным сиквенс типам ST7 и ST9. Изоляты *L. monocytogenes*, принадлежащие к ST7 по сравнению с ST37, различались в 26 раз по способности проникать в клетки. Таким образом, установлено, что наибольшее распространение на территории Российской Федерации получили *L. monocytogenes*, принадлежащие к ST7 с наибольшей инвазивной способностью в клетки эукариот.

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ТРАВЯНИСТОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ ОЗЕРА ЛУНСКОГО КАК ПОКАЗАТЕЛЬ БИОТОПИЧЕСКОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ И РЕКРЕАЦИОННОЙ НАГРУЗКИ

Е. Р. Вершинина, А. А. Панкратов

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vershinina-lenochka@inbox.ru

Озеро Лунское представляет собой водоем карстово-суффозионного происхождения правобережной поймы рекреационной пригородной территории Нижнего Новгорода. Сообщества растений береговой полосы указывают на состояние водоохранной зоны и качество воды. Несмотря на интенсивную рекреационную нагрузку они отличаются высоким видовым разнообразием. Сочетание природного, сельского, садоводческого и лесопаркового ландшафтов на водосборе способствует пространственной мозаичности и внедрению видов-рудералов на нарушенные участки берегов.

Всего выявлено 117 видов травянистых растений (28–68 видов на разных берегах). Наибольшее число видов (66) отмечено на восточном берегу с высокой долей сорно-луговой растительности, разным уровнем увлажнения и интенсивной рекреационной нагрузкой. Наименьшее видовое богатство (28, 34) в заболоченных северо-западном участке озерного стока и западной старицы. По проективному покрытию доминируют *Carex acuta*, *Glyceria maxima*, *Iris pseudacorus*, *Rumex hydrolapathum*. Водная растительность сильно развита в мелководной северной и северо-западной части акватории с преобладанием *Nuphar luteum*, *Potamogeton perfoliatus*, *Lemna trisulca*. Мелководное дно восточного залива покрыто *Elodea canadensis*. Низкая прозрачность воды ограничивает распространение гидрофитов до глубины 1,8 м. Пространственная изменчивость видовой структуры травянистой растительности носит постепенный характер на дендрограмме, построенной по индексу β -разнообразия Мориситы-Хорна. Сообщества южного и восточного берегов имеют максимальный уровень сходства в условиях освещенных местообитаний и умеренной рекреационной нагрузки. Высокий уровень сходства сообществ (более 90%) отмечается на южном и восточном берегах, где преобладает *C. acuta*, субдоминанты *G. maxima*, *R. hydrolapathum*, *I. pseudacorus*. Последний вид редко встречается на нарушенном рекреацией восточном берегу. Растительность северного берега также довольно разнообразна. Восточный залив довольно сильно отличается от другой части восточного берега большим проективным покрытием *R. hydrolapathum*, *I. pseudacorus* и представленностью *Butomus umbellatus*, *Sagittaria sagittifolia*, *Sparganium angustifolium*, *Stachys palustris*. Растительность западного берега, его болотистые сток и северо-западные старицы более далеки по видовой структуре в зависимости от затенения, степени увлажнения и проточного или застойного увлажнения. Характерными болотными видами являются *Thelypteris palustris*, *Typha latifolia*, *Comarum palustre*, *S. angustifolium*, *Carex vesicaria*. В условиях заболоченного стока широко распространены *Stratiotes aloides*, *S. angustifolium*, *Typha angustifolia*.

Показатели α -разнообразия, оцененные индексами Шеннона и Симпсона, показывают наибольшие значения на западном берегу, включая заболоченный сток, и в восточном заливе, где виды распределены с высокой выравненностью проективного покрытия (полидоминантные сообщества). Южный берег характеризуется наименьшими значениями индексов и монодоминантностью сообществ. Мозаичное β -разнообразие по отношению обобщенного γ -разнообразия к среднему выборочному индексу видового богатства Маргалефа имеет наибольшие значения на восточном берегу, к индексам разнообразия Шеннона и Симпсона – в заболоченном северо-западном стоке из озера.

Таким образом, береговая водоохранная зона озера Лунского имеет большое разнообразие травянистых сообществ. В условиях возрастающей рекреационной нагрузки на водоем необходимо предпринять водоохранные меры, прежде всего, рекомендовать уникальный для мегаполиса карстовый водоем к охране в статусе регионального памятника природы с расширением прибрежной защитной полосы.

АНАЛИЗ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА И ЛЕЖАЩИХ В ЕЕ ОСНОВЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ

О. С. Вершинина¹, М. В. Иванченко¹, К. Франчески²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

²Университет Болоньи, 40126, Болонья, Италия

Основным вопросом в геронтологии является понимание того, как люди стареют. Известно, что существует значительная разница в скорости старения отдельных людей, а также в предрасположенности к возрастным заболеваниям. Измерение индивидуального биологического старения может помочь в реализации профилактических и персонализированных мероприятий по укреплению здоровья.

В настоящее время существует множество способов измерения биологического возраста человека, например, с помощью физиологических и биохимических параметров, длины теломер или транскриптомных, протеомных и метаболомных предикторов. Недавно было показано, что старение имеет эпигенетический характер, и была обнаружена возможность оценивать возраст индивида с помощью метилирования ДНК, что привело к построению очень точных оценок биологического возраста, называемых эпигенетическими часами. Эпигенетические часы состоят из набора CpG-сайтов (маркеров метилирования ДНК), уровни метилирования которых сильно коррелируют с хронологическим возрастом.

Метилирование ДНК — надежный индикатор возрастных изменений, обладающий высокой точностью относительно других методов. Однако существует некоторая вариабельность в оценке возраста по эпигенетическим часам: среди сверстников по хронологическому возрасту часто наблюдаются значительные различия в скорости биологических изменений. До сих пор не совсем ясно, в какой степени отклонение эпигенетического возраста от хронологического обусловлено генетическими детерминированными различиями между индивидами или стохастическими факторами и шумом.

Подавляющее большинство исследований эпигенетических часов на сегодняшний день было проведено на поперечных данных, которые не отражают индивидуальные траектории старения. В нашей работе мы использовали набор продольных данных E-MTAB-7309 из репозитория ArrayExpress, на основе которого проанализировали гетерогенность процессов старения, вычислив биологический возраст с помощью четырех известных эпигенетических часов (DNAmAge, DNAmAgeHannum, DNAmPhenoAge и DNAmGrimAge). Было показано, что у преобладающего количества людей наблюдаются детерминированные индивидуальные траектории изменения биологического возраста, а вариабельность биологического возраста внутри популяции обусловлена различиями между людьми. С помощью продольных измерений метилирования ДНК мы так же оценили динамику эпигенетических изменений во времени у людей и выделили сценарии изменения биологического возраста в течение жизни.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 074-02-2018-330 «Цифровая персонализированная медицина здорового старения (ЦПМ-старения): сетевой анализ больших мультиомных данных для поиска новых диагностических, предсказательных и терапевтических целей».

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* НА ПРОЦЕССЫ ЗАМЕРЗАНИЯ ВОДЫ И ТАЯНИЯ ЛЬДА

В. Р. Веселова, М. А. Мажорина, Б. С. Мельник

Институт белка РАН, 142290, Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 4;

puella-viktoria@yandex.ru

Представители бактериального семейства Pseudomonadaceae распространены повсеместно и являются неотъемлемыми участниками разных экосистем. Эти микроорганизмы выполняют множество функций в биоценозах, в том числе среди них присутствуют растительные патогены, один из которых способен инициировать образование льда – бактерия *Pseudomonas syringae*. В клеточной стенке *P. syringae* есть белки INA (ice nucleation active proteins), которые способны быть центрами кристаллизации льда. Несмотря на большой интерес к таким белкам, их влияние на процесс замерзания воды плохо изучено. Одной из причин, стали технические трудности при проведении экспериментальных исследований. Трудно работать с замерзающими и плавящимися жидкостями при температурах, близких к нулю. В литературе способность *P. syringae* инициировать замерзание льда исследуется, в основном, методами визуального контроля на основе количественного подсчета замерзших капель клеточной суспензии при определенной температуре.

В нашей работе мы изучаем замерзание суспензии клеток *P. syringae* и клеток *Escherichia coli* при непрерывном охлаждении раствора и плавлении льда. В собранной нами установке мы можем измерять три параметра: температуру замерзания воды, температуру сосуществования льда и воды и температуру плавления льда. Измерение этих параметров позволяет определить особенности функционирования INA белков. Мы исследовали влияние разных концентраций *P. syringae*, на изменение трех температурных параметров. В качестве контроля проводились эксперименты с клетками *E. coli*, которые не способны инициировать образование льда.

В результате получены зависимости температуры замерзания воды, температуры сосуществования льда и воды и температуры плавления льда от концентрации клеток *P. syringae* и клеток *E. coli*. Показано, что ни один из температурных параметров не зависит от концентрации клеток *E. coli*. Клетки *P. syringae* влияют на температуру замерзания раствора и на температуру сосуществования льда и воды. Зависимость температуры сосуществования льда и воды от концентрации клеток *P. syringae*, получена впервые. Наличие такой зависимости свидетельствует о взаимодействии клеток с поверхностью льда.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-14-00268).

РЕАКЦИЯ ПЕЧЕНИ НА ВВЕДЕНИЕ ЖЕЛЕЗОУГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

В. Д. Волочнева

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19; victoria.volochneva@gmail.com

С развитием нанотехнологии в области биомедицины появилось большое количество наноматериалов с широким спектром применения. Специфические свойства наночастиц (NPs) сделали их подходящими для решения различных терапевтических задач, таких как магнитно-резонансная томография, иммуноанализ, гипертермия, восстановление тканей, клеточная терапия и адресная доставка лекарств. Характерные свойства наночастиц позволяют им проникать в различные клетки и клеточные компартменты, что может привести к некоторым опасным и токсическим эффектам. Печень как основной орган, в котором происходит биотрансформация токсичных агентов, является органом-мишенью для наночастиц. Различные типы магнитных наночастиц, как правило, осаждаются в ней с выраженными токсическими эффектами, что свидетельствует о необходимости разработки наиболее безопасных технологий. Цель работы – изучить влияние железоуглеродных наночастиц FeC - DSPE –PEG 2000 на морфологические и физиологические показатели печени.

Исследование проводили на 20 крысах линии Wistar, которые были разделены на 4 экспериментальные группы (n=5): интактные животные, животные, выведенные из эксперимента на 1, 7 и 30 сутки после введения 0,7 мл железоуглеродных наночастиц в концентрации 5 мг/мл в хвостовую вену. Биохимический анализ крови определяли спектрофотометрически (СФ-56 Ломо-спектр) с помощью наборов фирмы «Витал Диагностика Спб». Для морфометрического анализа печени были изготовлены гистологические препараты, которые окрашивали гематоксилин-эозином.

По результатам биохимического анализа периферической крови было выявлено возрастание уровня аспартатаминотрансферазы (АСТ) на 7 и 30 сутки после введения NPs по сравнению с контролем. Кроме того, наблюдалось возрастание уровня общего белка к 30 суткам.

По результатам морфометрического анализа было выявлено возрастание количества гепатоцитов на 1, 7 и 30 сутки по сравнению с контролем и на 7 сутки по сравнению с 1. На 30 сутки по сравнению с 7 изменений не наблюдается. Количество гепатоцитов, находящихся в состоянии митоза, резко возрастает после введения NPs по сравнению с интактной тканью и остается неизменным в период с 1 по 30 сутки. Количество бинуклеарных гепатоцитов имеет тенденцию к возрастанию с 1 по 30 сутки и резко выше по сравнению с контролем. Площадь гепатоцитов уменьшается к 7 суткам после введения NPs и имеет тенденцию к нормализации к 30 суткам. Площадь ядра гепатоцитов резко падает после введения NPs и остается на одном уровне на протяжении периода с 1 по 30 сутки. Площадь просвета сосудов имеет тенденцию к возрастанию. Таким образом, печень реагирует на введение NPs активацией процессов регенерации.

Результаты исследования показали, что после внутривенного введения железоуглеродных NPs происходит их накопление в печени и выведение из ткани к 30 суткам. NPs, депонированные в ткани печени, вызывают морфологические изменения и метаболическую дисфункцию этого органа. Токсические эффекты носят обратимый характер, о чем свидетельствует частичное восстановление структуры ткани к 30 суткам. При этом клетки печени показывают повышение пролиферативного потенциала. Таким образом, печень реагирует на введение NPs активацией процессов регенерации. Результаты исследования свидетельствуют о необходимости разработки наиболее безопасных технологий и оценки рисков при использовании наночастиц для адресной доставки лекарств и других целей биомедицины.

ВЛИЯНИЕ СРЕДНЕ И ВЫСОКОЧАСТОТНЫХ ЗВУКОВЫХ ВОЛН НА НАКОПЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ У *BRASSICA OLERACEA* VAR. *SABELLICA*

И. В. Галиев, Е. Алмуграби, А. А. Мостякова, О. А. Тимофеева

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

В последние два десятилетия исследования, изучающие использование звуковых волн для повышения урожайности и устойчивости к болезням и расшифровавшие экологическую значимость таких реакций, только недавно достигли определенных успехов. Подобно животным, где основным способом обмена информацией является акустическая связь, недавно было также показано, что растения взаимодействуют аналогичным образом, возможно, посредством звуковых колебаний. Это также подтверждается чувствительностью растений к обнаружению вибраций на селективной частоте и их способностью генерировать структурированные, спайкообразные акустические излучения в ответ.

В методах культивирования растительных тканей было доказано, чтобы звуковые волны усиливали органогенез. Ультразвук (звук выше звукового диапазона 20 000 Гц) был успешно использован для усиления опосредованной *Agrobacterium* трансформации северных растений, таких как соя, вина китайская, пшеница яровая и сахарная кукуруза. Так же имеются опыты, свидетельствующие о значительном увеличении индекса прорастания, высоты побегов, сырого веса, поглотительной активности корневой системы и проницаемости клеточной мембраны риса, обработанного ЗВ с частотой 400 Гц и 106 дБ.

Мы определили влияния звуковых волн (ЗВ) на содержание флавоноидов в 4 сортах капусты кейл. Флавоноиды (ФЛ) определяли по реакции с $AlCl_3$ калориметрическим методом при длине волны 420 нм. Контрольные проростки 4 сортов росли 7 часов в тени и в тишине, опытные проростки росли 7 часов под воздействием звука (800/1000 гц) в тени.

Согласно статистическим данным, проведенный эксперимент свидетельствует о том, что звуковые волны действительно повышают количество флавоноидов. Звуковые волны в 1000 Гц и 800 Гц у растений немецкого сорта увеличивали суммарное содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин на 90 и 52 %, у растений сорта «Nero Di Toscana» на 75 и 30 %, у растений сорта «Кай и Герда» увеличивали на 200 и 35 % , и у сорта «*Dwarf Green Curled*» увеличивали на 194 и 30 % соответственно по сравнению с необработанным контролем.

Исходя из результатов, звуковые волны повышают суммарное содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин в среднем на 140% при частоте 1000Гц, что на 2,9 раз больше, чем при 800Гц (48%), причем максимально повысилось содержание в сорте «Кай и Герда» и составило 200%.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАТЕРИТА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПОРФИРАЗИНОВОЙ ПРИРОДЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ T24

Галочкина Н. Е.¹, Шестакова Л. Н.¹, Белотелов А. О.¹, Трушина Д. Б.², Клапшина Л. Г.³, Шлягина Н. Ю.¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
natalia.volkova.unn@yandex.ru

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
119048, Москва, ул. Трубецкая, 8

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

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это перспективный метод лечения онкологических заболеваний, в том числе заболеваний опухолей мочевого пузыря. Для её реализации фотоактивное соединение – фотосенсибилизатор (ФС) – вводится либо в кровоток, либо внутривезикулярно. Далее к опухолевому участку с помощью световода подводится лазерное излучение для активации ФС и развития последующих фотохимических процессов, которые и вызывают гибель опухолевых клеток.

Существенным ограничением для применения многих ФС является тот факт, что для накопления в опухолевой ткани эффективных концентраций требуется введение их в больших дозах. В качестве системы доставки лекарственных препаратов большой интерес представляют нано- и микрочастицы карбоната кальция в полиморфной модификации ватерит.

Целью данной работы было исследование субмикронных частиц ватерита в качестве агентов для избирательной доставки фотосенсибилизатора порфиразиновой природы в эксперименте на клеточной культуре рака мочевого пузыря T24.

В работе исследовали тетраakis(4-бензилоксифенил)тетрацианопорфиразин (PzVn), синтезированный в ИМХ РАН г. Н. Новгорода, в свободной форме и в составе субмикронных (500 нм) частиц ватерита, синтезированных в ПМГМУ им. И.М. Сеченова.

С помощью метода спектрофлуориметрии нами было показано, что PzVn имеет два максимума поглощения, локализованных на 360 нм и 590 нм, максимум флуоресценции на длине волны 675 нм.

Анализ внутриклеточной локализации PzVn в свободной форме и в составе частиц ватерита, проведенный методом лазерной сканирующей микроскопии с использованием специфических красителей на органеллы показал, что свободный PzVn накапливается в цитоплазме клеток, преимущественно локализуясь в околядерной области клетки, PzVn в составе частиц ватерита демонстрирует тенденцию к «налипанию» на мембранные структуры клетки – наружную мембрану клеток и эндоплазматический ретикулум.

Методом МТТ-теста нами было показано, что частицы ватерита в исследуемом диапазоне концентраций не являются токсичными для клеток T24 как при инкубации в темноте, так и на свету. Выбранный диапазон соответствовал таковому при внесении загруженных частиц. Продемонстрирована высокая световая токсичность PzVn в свободной форме. Показано, что использование частиц ватерита снижает темновую токсичность PzVn при сохранении его фотодинамической активности.

Таким образом в ходе исследования нами продемонстрировано, что частицы ватерита являются перспективными агентами для избирательной доставки противоопухолевых соединений, в частности фотосенсибилизаторов, направленных на терапию рака мочевого пузыря.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 21-74-10058).

ЗАВИСИМОСТЬ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ОТ МАСШТАБА В ПРИРОДНЫХ И МОДЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВАХ

А. С. Герасимова, В. Н. Якимов

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
arrirh@gmail.com

Для выявления механизмов формирования структуры сообществ используется методология анализа филогенетической структуры, основанная на нуль-модельном анализе среднего родства между видами. В экологии сообществ до недавнего времени господствовали представления о том, что на малых масштабах следует ожидать более выраженного эффекта конкурентного исключения, который на больших масштабах сменяется эффектом фильтрации средой.

Целью данной работы являлось систематическое исследование зависимости показателей филогенетической структуры от масштаба. Для решения этой задачи были подобраны наборы данных по структуре разнотипных биотических сообществ (лесные и луговые фитоценозы, таксоцены насекомых, планктонные сообщества), имеющие непосредственную геометрическую привязку, что обеспечивает возможность работы в некотором диапазоне масштабов. Для анализа филогенетической структуры помимо стандартных для экологии сообществ данных о представленности видов были сформированы филогенетические деревья, отражающие степень родства между видами. Были разработаны специальные схемы масштабирования показателей филогенетической структуры, а также соответствующие алгоритмы статистического анализа.

Результаты проведенного исследования показали, что предполагаемая универсальная однонаправленная зависимость структурных показателей от масштаба отсутствует, то есть с ростом масштаба может усиливаться как эффект фильтрации средой (что предполагается стандартной моделью), так и эффект биотических взаимодействий (в первую очередь конкуренции). Полученный результат о разнонаправленной зависимости от масштаба представляется фундаментально важным и открывает перспективы использования информации о силе и направлении зависимости от масштаба для вскрытия механизмов, определяющих структуру сообщества. С этой целью было проведено моделирование пространственной структуры сообщества *in silico* на основе динамической модели сообщества в дискретном гетерогенном пространстве. Были выявлены разнонаправленные зависимости от масштаба показателей филогенетической структуры модельных сообществ, что позволило разработать схему сопоставления механизмов с данными об эмпирических зависимостях. Эта схема основана не только на направлении зависимости от масштаба, но также и на исходном уровне показателя филогенетической структуры на наименьшем масштабе. Разработанная схема позволяет выявлять не только отдельные механизмы (фильтрация средой либо конкурентное исключение), но и их совместное действие. В стандартных же инструментах совместное действие механизмов выявить невозможно ввиду того, что их эффекты компенсируют друга и при равноценном влиянии статистически значимого эффекта выявлено не будет. Новый метод представляется важным развитием методологии нуль-модельного анализа структуры биотических сообществ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-04-01084).

АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ОСОБЕННОСТЯМИ СТРУКТУРЫ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ МАТРИКСОВ И ИХ СПОСОБНОСТЬЮ К РЕПОПУЛЯЦИИ КЛЕТКАМИ ЛИНИИ SKOV-3

С. Л. Гефтер¹, А. Д. Поспелов¹, Д. Б. Трушина^{2, 3}, И. В. Балалаева¹

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
sofia.gieftier.00@mail.ru

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
119991, Москва, ул. Трубецкая, 8/2

³ ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59/1

В настоящее время важную роль в изучении молекулярных механизмов роста, развития и инвазии опухолевых клеток играют различные модели опухолей *in vitro*. Демонстрация физиологически значимых реакций больше присуща трехмерным моделям опухолевого роста. Воссоздать межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия позволяют трехмерные модели, сформированные на основе внеклеточного матрикса (ВКМ), полученного методом децеллюляризации. Для создания модели опухолевого роста децеллюляризованные (ДЦЛ) матриксы подвергаются процедуре рецеллюляризации.

Целью работы являлся сравнительный анализ фенотипических особенностей опухолевых клеток при росте в матриксах с различными структурными характеристиками. В качестве объекта исследования были использованы клетки аденокарциномы яичника человека линии SKOV-3, которыми проводилась репопуляция ДЦЛ матриксов легких, селезенки, печени, почек и яичников мышей линии BALB/c.

Получение ДЦЛ матриксов проводилось методом децеллюляризации, включающим четыре последовательные смены растворов детергентов, в которых выдерживались образцы извлеченных органов: 1 час в 0,5% Triton X-100, 1 час в 0,5% SDS, 1 час в 1% SDC, 24 часа в 0,075% SDS. По окончании децеллюляризации образцы дважды выдерживались по 24 часа в растворах PBS, затем в течение 72 часов – в ростовой среде DMEM. В процессе проведения рецеллюляризации ДЦЛ матриксы размещали в лунки низкоадгезивного культурального планшета. В каждый матрикс при помощи инъекций инсулиновым шприцом вводились 2×10^6 клеток линии SKOV-3 в 200 мкл, после чего объем среды в лунках доводили до 5 мл. По завершении первой репопуляции планшет с матриксами инкубировался на орбитальном шейкере при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение недели. Повторные репопуляции проводились на 3 и 5 дни. Для исследования структуры ДЦЛ матриксов применяли метод сканирующей электронной микроскопии (Hitachi TM4000Plus). Для оценки степени заселенности матриксов использовали стандартный метод гистологического исследования.

По результатам исследования были получены ДЦЛ матриксы, и, впоследствии, рецеллюляризованные матриксы различных органов мыши. Было выявлено, что в наибольшей степени заселению клетками подвержен ДЦЛ матрикс легкого, обладающий наименее плотной организацией коллагеновых волокон, и, соответственно, наибольшим диаметром пор. Фенотип репопуляризованных клеток наблюдался преимущественно мезехимальный. Аналогичная ситуация была отмечена в ДЦЛ матриксах печени и почки. Противоположные эффекты на клетки оказали ДЦЛ матриксы селезенки и яичника, обладающие наиболее плотной волокнистой структурой: степень репопуляции была низкая; наблюдался преимущественно эпителиальный фенотип заселенных клеток. Таким образом, была обнаружена взаимосвязь между структурными особенностями ДЦЛ матриксов и их способностью к репопуляции опухолевыми клетками: модели опухолевого роста на основе ДЦЛ матриксов с низкоплотной организацией коллагеновых волокон демонстрируют обилие клеток с выраженным мезехимальным фенотипом. Данное заключение может свидетельствовать о том, что метастатический потенциал при канцерогенезе повышается при формировании первичной опухоли в областях с низкой плотностью волокон ВКМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проекты № 19-74-20168 и № 21-74-10058).

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ ЦИТОХАЛАЗИНОМ В МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ОПУХОЛЕВЫЕ СФЕРОИДЫ

З. Е. Гилазиева, А. С. Пономарев, А. А. Ризванов, В. В. Соловьева

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

Мембранные везикулы играют роль в переносе различных веществ (белков, нуклеиновых кислот, липидов) между клетками и создании определенного опухолевого микроокружения. Влиять на прогрессирование опухоли могут везикулы клеток, которые окружают опухоль. К таким клеткам можно отнести мезенхимные стволовые клетки (МСК). Поэтому исследование влияния везикул МСК на опухолевые сфероиды представляет интерес. Целью данной работы является изучить влияние индуцированных цитохалазином В мембранных везикул МСК человека на опухолевые сфероиды *in vitro*.

В данной работе клетки аденокарциномы молочной железы (МСF7) использовались для создания опухолевых сфероидов в суспензионной культуре. Везикулы были получены из МСК человека с помощью 10 мкг/мл цитохалазина В и серии последовательных центрифугирований. Добавление индуцированных цитохалазином В мембранных везикул (ицВмв) к сферам производилось в разных концентрациях. Было сгенерировано 4 группы сфероидов: 1-контроль (без добавления ицВмв), 2- с добавлением 5 мкг ицВмв, 3- с добавлением 10 мкг ицВмв, 4- с добавлением 20 мкг ицВмв. Влияние ицВмв анализировали с помощью проточной цитофлуориметрии и полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Сканирующая электронная микроскопия показала, что ицВмв имеют округлую форму и разные размеры. Результаты конфокальной микроскопии подтвердили слияние везикул и клеток МСF7. Окрашивание аннексином V показало уменьшение количества жизнеспособных опухолевых клеток в сферах после добавления ицВмв в концентрации 20 мкг. С помощью ПЦР-РВ было показано изменение в экспрессии генов OCT4 и SOX2 по сравнению с контролем.

Таким образом, в данной работе мы показали возможное влияние ицВмв МСК на опухолевые сфероиды молочной железы человека. Для обнаружения детальных механизмов данного влияния необходимы дальнейшие исследования.

Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030), за счет средств Российского научного фонда (грант № 21-74-10021).

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСУДИСТОГО РУСЛА ОПУХОЛЕЙ РАЗЛИЧНОГО МОРФОГЕНЕЗА

***А. М. Глявина¹, К. Г. Павлова², А. А. Курников², Ю. А. Хоченкова³,
П. В. Субочев², А. Г. Орлова²***

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
annaglyavina@gmail.com

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

³НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115522, Москва,
Каширское шоссе, 24

Между сосудами нормальной и опухолевой ткани существуют различия, которые способствуют формированию участков гипоксии опухоли, препятствуют доставке лекарственных препаратов, в итоге вызывая снижение чувствительности к терапии. Различные типы опухолей существенно отличаются друг от друга по структуре сосудов, и эти различия рассматриваются как прогностический критерий и определяют выбор способа терапии.

В настоящей работе для оценки структуры сосудистого русла и уровня оксигенации экспериментальных новообразований было предложено сочетание методов оптоакустической (ОА) микроскопии и оптической диффузионной спектроскопии (ОДС). Целью работы было сравнение структуры сосудов и уровня оксигенации экспериментальных опухолей различного морфогенеза методами ОА и ОДС. Для верификации данных ОДС проводилось иммуногистохимическое (ИГХ) исследование опухолевых тканей с маркером гипоксии пимонидазолом (ПМ).

Исследование было проведено на мышах самках линии Balb/c-nude с привитыми подкожно опухолями на основе клеточных линий SN-12C (рак почки человека, $n = 4$), НСТ116 (рак толстого кишечника человека, $n = 4$), Colo320 (рак толстого кишечника человека, $n = 4$). Исследование осуществляли при среднем объеме новообразования 700 мм³ на 29 день роста опухолей НСТ116 и Colo320, и на 125 день роста SN-12C.

Для ОА и ОДС исследований животные под изофлурановым наркозом закреплялись в положении на боку на переносной опорной пластине, имеющей отверстие для расположения зоны исследования над датчиком ОА микроскопа. Для ОА использована установка (ИПФ РАН) с лазером с длиной волны 532 нм и частотой следования и длительностью импульсов 2 кГц и 1 нс. Для ОДС использована установка (ИПФ РАН) с оптическим зондом из четырех волокон, использующая в качестве источника светодиод с длиной волны 400-700 нм и спектрометр в качестве детектора. Для ИГХ ПМ вводили внутривенно, через 45 минут опухоли извлекали, изготавливали криосрезы. Срезы окрашивали с использованием мышинных моноклональных антител к пимонидазолу, конъюгированных с флуоресцинизиотиоцианатом. Относительную гипоксическую фракцию рассчитывали как процент площади ПМ-положительных зон от общей площади образца.

В ходе работы показано, что опухоли SN-12C характеризуются низкой скоростью роста по сравнению с Colo320 и НСТ116. Методом ОДС у Colo320 показано повышенное содержание гемоглобина и сниженный уровень насыщения крови кислородом по сравнению с SN-12C и НСТ116. Причиной сниженной оксигенации является высокое содержание дезоксигемоглобина, характеризующего потребление кислорода тканями. С помощью ОА визуализации показано отсутствие регулярной структуры сосудистой сети всех экспериментальных новообразований. Опухоль Colo320 характеризуется присутствием обширных гемоглобин-содержащих структур, предположительно, кровоизлияний. Методом ИГХ у Colo320 выявлены более высокие значения относительной гипоксической фракции по сравнению с SN-12C и НСТ116, что подтверждает результаты ОДС.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда № 21-15-00032.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОД РЕКИ ПЬЯНЫ ПО ФИТОПЛАНКТОНУ

В. В. Головина, Е. Л. Воденеева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

naturesoooul@mail.ru

По территории Нижегородской области протекает самая большая «внутренняя» река области, которая является крупнейшим левым притоком Суры. Обладая выраженной извилистостью, река получила характерное название – Пьяна. Длина Пьяны 436 км, исток находится в 30 км от Суры, село Сарбаево, а устье – в 60 км от истока. Площадь бассейна водотока – 8060 км². Средний расход воды 25 м³/с. Крупными притоками длиной 30–70 км являются Чека, Ежать, Сердезь, Келя, Вадок, Анда, Кетарша, Пица и Пары. На водосборе Пьяны расположено 1179 озер, прудов и водохранилищ. Почти половину своего пути река течет на запад; в среднем течении, ниже с. Ичалки, резко поворачивает на север, а затем у с. Тилинино – на восток. В этом направлении она идет до впадения в Суру. Долина реки асимметричная, шириной 3–6 км. Левый склон, как правило, пологий, террасированный, высотой до 30–50 м, правый – чаще крутой, высотой до 40–70 м, сильно расчлененный короткими глубокими оврагами. Река в основном протекает в холмистой в целом безлесной местности. Берега русла высокие, от 5 до 7 м, иногда очень крутые и обрывистые, сложенные песчано-глинистыми грунтами. Река Пьяна является уникальным объектом исследования фитопланктона в условиях высокой минерализации вод.

Целью исследования является анализ состава и структуры фитопланктона речной экосистемы, имеющей высокую минерализацию, и оценка качества воды.

Материалом для работы послужили пробы фитопланктона, отобранные в летний период 2021 г. Отбор и обработка материала проводились общепринятыми в альгологии методами.

Гидрохимический состав воды реки Пьяна отличается на разных участках течения. Так, воды истока относят к гидрокарбонатному классу, группе кальция, а в средней части реки происходит смена гидрокарбонатного класса на сульфатный. По данным 2021 г. отмечалось превышение содержания ионов магния (41 мг/л), сульфатов (390 мг/л) и меди (0,01 мг/л). В пределах допустимой концентрации находились ионы аммония (0,008 мг/л), хлорида (11,0 мг/л), нитратов (1,0 мг/л), фторидов (0,1 мг/л), натрия (4,8 мг/л), железа (0,05 мг/л) и марганца (0,001 мг/л). Верхней границы нормы достигала концентрация ионов кальция (180 мг/л). По показателям pH (7,6–7,72) водоток обладал нейтральными водами.

В фитопланктоне низовья реки отмечено доминирование по биомассе таких отделов водорослей как Chlorophyta (0,146 г/м³; 48,83%) и Bacillariophyta (0,135 г/м³; 45,2%). Преобладающими видами из отдела зеленых являлись *Lagerheimia balatonica*, *Coelastrum microporum* и *Scenedesmus quadricauda*, в отделе Diatomophyta – *Cocconeis placentula*. В среднем течении основную роль в формировании биомассы создавали диатомовые (0,037 г/м³, 62,7%), зеленые (0,011 г/м³, 18,6%) и криптофитовые (0,009 г/м³, 15,3%). Среди зеленых водорослей доминантами выступали *Scenedesmus intermedius* var. *acutispinus*, *L. balatonica*, *Kirchneriella lunaris*, среди диатомовых – *Cyclotella* sp., *Fragilaria radians*, *Fragilaria* sp., а среди криптофитовых – *Cryptomonas ovata*, *Cryptomonas* sp., *Komma caudata*. Степень органического загрязнения, оцененная с помощью индекса сапробности (SN (по численности) = 2,23–2,31, SB (по биомассе) = 1,77–1,84) была средней, соответствуя III классу качества вод – «умеренно загрязненные».

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СПИННОГО МОЗГА НА МЫШИНОЙ МОДЕЛИ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

М. А. Голубенко, И. И. Салафутдинов

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

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – быстро прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся поражением двигательных нейронов как в моторной коре головного мозга, так и в передних рогах спинного мозга. Клиническое проявление заболевания заключается в параличе конечностей, мышечной атрофии, дыхательной недостаточности, что неизбежно ведёт к летальному исходу. Изучение тканей спинного мозга на различных стадиях прогрессирования заболевания необходимо для понимания, терапевтическое воздействие на какие клетки-мишени может быть наиболее эффективным и привести к положительному результату. Данный подход способствуют улучшению как методов диагностики БАС, так и новых стратегий терапии этого заболевания. Цель работы исследование динамики гистологических изменений спинного мозга на мышинной модели бокового амиотрофического склероза.

Были исследованы клеточные линии передних рогов на поперечных срезах спинного мозга hSOD1 мышей с БАС (B6SJL-TG(SOD1-G93A)dl1Gur/J) на доклинической, клинической и терминальной стадии заболевания, а так же контрольных мышей того же возраста. Методом иммунофлюоресцентной конфокальной микроскопии был проведён морфометрический и количественный анализ популяций глиальных клеток на каждой стадии: GFAP+реактивных астроцитов, IBA1+ реактивной микроглии, NG2-протеогликан+ NG2-глии и Olig2+олигодендроцитов.

Количественный анализ показал, что на стадии клинических проявлений происходит резкий скачек количества реактивных астроцитов в сером веществе передних рогов спинного мозга по сравнению с доклинической стадией и у мышей дикого типа. Рост количества реактивной астроглии продолжается вплоть до терминальной стадии развития заболевания. Тогда как активизация микроглии и увеличение количества активированных микроглиальных клеток происходит только на терминальной стадии развития БАС. Количество олигодендроцитов снижается постепенно на стадии клинических проявлений, на терминальной стадии визуализируются единичные олигодендроциты. Экспрессия NG2 протеогликана в спинном мозге мышей дикого типа выявляется в клетка-предшественниках олигодендроцитов (ОПС) и редко в цитоплазме олигодендроцитов. На стадии клинических проявлений экспрессия этого протеогликана определяется еще в реактивных астроцитах, к терминальной стадии количество NG2+ ОПС клеток снижается, однако экспрессия NG2 протеогликана другими клетками, в частности, реактивными астроцитами достоверно увеличивается.

Таким образом, выявлено, что реактивный астроглиоз происходит уже на доклинической стадии БАС, который характеризуется изменением морфологии астроглиальных клеток и приобретением ими нейротоксического фенотипа. По мере развития заболевания на следующей стадии выделяемые реактивными астроцитами цитокины активируют NG2 клетки, которые реагируют на изменения в ЦНС при БАС, отвечая усиленной пролиферацией. Однако денервированные олигодендроциты погибают, и на терминальной стадии происходит пролиферация активированной микроглии, которая фагоцитирует дегенерировавшие клетки. В итоге формируется глиальный рубец: астроциты-NG2клетки-микроглия.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ЭПИЛЕПСИИ

А. Д. Голушкова, М. В. Ведунова, Т. А. Мищенко

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ngolushkova_99@mail.ru

Гипоксия является распространенным стресс-фактором, входящим в лист ключевых триггеров развития различных патологий ЦНС. Хроническая пренатальная гипоксия является наиболее тяжелой формой гипоксии, развивающейся в процессе беременности. Помимо формирования грубых пороков развития, неврологических расстройств и нарушений когнитивных способностей, пренатальная гипоксия способна спровоцировать развитие эпилептиформной активности. Так как кислород является центральным элементом в реакциях окислительного фосфорилирования дыхательной цепи и оксигеназных реакций в электрон-транспортной системе, митохондрии являются наиболее чувствительным компартментом клетки к дефициту кислорода. Целью работы явилось исследование влияния хронической пренатальной гипоксии на функциональную активность митохондриального аппарата клеток головного мозга мышей с предрасположенностью к эпилепсии.

Объектом исследования служили новорожденные мыши линии S8-3 с предрасположенностью к эпилепсии, подвергшиеся хронической пренатальной гипоксии. Данная линия была получена методом ENU-мутагенеза и размножена с закреплением фенотипического признака на базе SPF-вивария ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Для моделирования хронической пренатальной гипоксии беременные самки линии S8-3 с 14-го дня гестации до родов ежедневно помещались в вакуумную проточную барокамеру, в которой в течение 2 часов поддерживали давление 177–218 мм рт. ст. (≈ 6500 – 7000 м н. у. м.). Контрольную группу животных составляли гибридные самки двух линий C3H и C57Bl6, которые гипоксическому воздействию не подвергались. На первые сутки постнатального периода развития проводилась оценка дыхательной активности митохондрий клеток коры больших полушарий головного мозга. Определение параметров дыхания митохондрий мозга проводили по оценке скорости поглощения ими кислорода с помощью респирометра высокого разрешения Oxugraph-2k. Анализировались следующие параметры: величина базального дыхания, скорость потребления кислорода, ассоциированная с комплексами дыхательной цепи I и II, определение процентного вклада комплекса II в базальное дыхание и оценка величины протонной утечки.

В результате проведенных исследований установлено, что базальная скорость потребления кислорода при окислении субстратов во всех исследуемых группах не имеет достоверных различий с контрольной группой. При стимулировании первого комплекса дыхательной цепи АДФ показатели в образцах гипоксия-индуцированных животных ($24,5 \pm 3,4$ pmol/(s·ml), 1 мг белка) в среднем превышали контрольные значения на 16,5% ($148 \pm 33,3$ pmol/(s·ml), 1 мг белка). Воздействие хронической пренатальной гипоксии также приводило к снижению активности альтернативного сукцинатзависимого пути дыхания $22,9 \pm 5,6$ pmol/(s·ml), 1 мг белка) в среднем на 23% по сравнению с контрольной группой ($100,5 \pm 17,5$ pmol/(s·ml), 1 мг белка). Также в образцах гипоксия-индуцированных животных выявлено снижение скорости протонной утечки ($11,5 \pm 3,3$ pmol/(s·ml), 1 мг белка) в среднем на 28% относительно контрольных значений ($0,63 \pm 6,73$ pmol/(s·ml), 1 мг белка).

Таким образом, воздействие хронической пренатальной гипоксии приводит к снижению функциональной активности митохондриального аппарата клеток головного мозга у мышей с предрасположенностью к эпилепсии.

Работа выполнена в рамках проекта госзадания Министерства науки и высшего образования РФ № 0729-2020-0061 с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Молекулярной биологии и нейрофизиологии» ННГУ им. Н.И.Лобачевского.

ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В ИНИЦИАЦИИ ЭФФЕКТА СВИДЕТЕЛЯ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

А. А. Горохова, Ю. С. Бугрова, Н. Н. Пескова, И. В. Балалаева

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

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – один из неинвазивных методов лечения онкологических заболеваний, основанный на окислительно-восстановительных реакциях с образованием активных форм кислорода (АФК), путем активации фотосенсибилизатора (ФС) видимым светом, в присутствии молекулярного кислорода. Вследствие несовершенного ангиогенеза опухоли вводимый ФС неравномерно доставляется к разным опухолевым клеткам. Тем не менее, клетки, испытывающие наибольший фотодинамический стресс, могут посылать сигналы соседним клеткам, не подвергающимся и/или минимально подвергающимся стрессу (свидетелям). Такой сигнал может передаваться, в частности, через щелевые контакты между клетками или через среду без физического контакта клеток. В качестве возможного сигнального посредника рассматривается пероксид водорода (H_2O_2).

Целью данной работы стало исследование возможности инициации эффекта свидетеля при фотодинамическом воздействии на культуру клеток *in vitro* и оценка потенциальной роли пероксида водорода как межклеточного сигнала. Объектом исследования стала созданная нами ранее линия клеток эпидермоидной карциномы человека, экспрессирующая в цитоплазме генетически кодируемый сенсор *HuPer*, чувствительный к (H_2O_2). Генетическое мечение клеток флуоресцентными сенсорными белками позволяет анализировать динамику вторичной продукции H_2O_2 в живых клетках в течение достаточно длительного времени после облучения. В качестве ФС был использован фталоцианиновый фотосенсибилизатор *Photosens*® (НИОПИК, Россия), гидрофильный анионный краситель, который преимущественно накапливается внутри лизосом и цистерн аппарата Гольджи. Продукцию пероксида в клетках, подвергнутых ФДТ, анализировали путем мониторинга изменения параметров флуоресценции сенсора *HuPer*. Относительное содержание перекиси водорода оценивали с помощью ратиометрического индекса, рассчитываемого как отношение флуоресценции сенсора при возбуждении на двух длинах волн – I_{488} / I_{405} . Эксперимент был поставлен таким образом, что фотодинамическому воздействию подвергалась лишь одна клетка (или участок цитоплазмы) во всем поле зрения, а ответ регистрировался как в облученной клетке, так и в необлученной области того же кадра. В этом исследовании мы подтвердили, что эффект свидетеля действительно наблюдается в необлученных клетках после локального фотодинамического воздействия. Нами была выявлена зависимость: чем дальше находится свидетель от облученной клетки, тем позднее и слабее регистрируется эффект или клетка не отвечает совсем. В случае присутствия в среде каталазы при локальном фотодинамическом воздействии нами был зарегистрирован ответ лишь облученной клетки, без ответа свидетелей. Это наблюдение согласуется с литературными данными об возможной роли H_2O_2 как сигнального посредника и инициатора запуска сигнальных каскадов при ФДТ. Можно предположить, что H_2O_2 из облученной клетки диффундирует в соседние клетки и запускает ответ, регистрируемый нами как развитие окислительного стресса в клетках-свидетелях.

Работа выполнена в рамках Госзадания Минобрнауки России № 0729-2020-0061

ДОСИМПТОМНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЛИСТЬЯХ ТАБАКА МЕТОДОМ РАМ-ФЛУОРИМЕТРИИ

А. И. Гришина, М. А. Гринберг, А. Д. Хлопков, М. Н. Агеева, Т. А. Здобнова,
А. А. Брилкина, В. А. Воденев

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
79159532707@yandex.ru

Фитопатогены являются одной из существенных причин потерь урожая. Несмотря на то, что в настоящее время в сельском хозяйстве используют в основном сорта растений, обладающие достаточно высокой устойчивостью к заражению различными патогенами и их негативному воздействию, ежегодно во всем мире наблюдается снижение урожайности сельскохозяйственных культур на 10–20% из-за болезней растений, что представляет серьезную угрозу глобальной продовольственной безопасности. Чаще всего болезни растений вызывают микроорганизмы различных таксономических групп, в том числе бактерии, грибы и вирусы. В частности, вирусы пасленовых, представляют собой серьезную угрозу, поражая такие важные сельскохозяйственные культуры, как картофель, помидоры, перец, баклажаны и табак. В связи с этим методы детектирования инфекций в растениях нуждаются в развитии.

Целью данной работы является поиск наиболее информативных показателей РАМ-флуориметрии и разработка режимов ранней детекции патогенов растений.

Исследования проводились на четырехнедельных растениях *Nicotiana benthamiana*, в которых наблюдали распространение вируса PVX, имеющего сшитый с белком оболочки флуоресцентный белок GFP. Инфицирование растений проводили с помощью агробактериальной инфильтрации четвертого настоящего листа.

В качестве методов обнаружения инфекции применяли РАМ-флуориметрию и визуальный осмотр. Замеры производили каждый день в одно и то же время в течение 10 дней.

В неинкубированном (10 листе) листе табака регистрировали вызванные инфицированием изменения параметров флуоресценции хлорофилла (квантовый выход фотохимии фотосистемы II (YII) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ)) и сравнивали с пространственным распределением вируса, выявляемым по флуоресценции GFP в составе вирусного капсида.

После адаптации растений к темноте в зараженной области неинкубированного листа наблюдалось небольшое отличие стационарных значений YII и NPQ по сравнению с таковыми в здоровой области того же листа. В отличие от стационарных показателей, динамика YII и NPQ, обусловленная включением актиничного света в здоровых и зараженных участках листа, существенно различалась, начиная со вторых суток после проникновения вируса в неинкубированный лист. Коэффициенты корреляции между параметрами флуоресценции хлорофилла и локализацией вируса составили 0,67 для YII и 0,76 для NPQ.

Представленные результаты демонстрируют большой потенциал использования визуализации РАМ для выявления зараженных и здоровых участков листа. Необходимость предварительной темновой адаптации для достижения высокого контраста между здоровыми и инфицированными участками ограничивает применение предложенного подхода в полевых условиях. Представляется перспективным использование предложенного метода для выявления чувствительных или устойчивых к инфекции растений в селекционных программах благодаря его высокой чувствительности в сочетании с неинвазивностью. Еще одна перспективная область применения – проверка эффективности новых биоцидных препаратов, разрабатываемых для борьбы с патогенами.

Работа выполнена в ходе выполнения проекта НЦМУ «Центр фотоники» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075-15-2020-927.

ПОЛИМОРФИЗМ *PHILAENUS SPUMARIUS* (AUCHENORRHYNCHA: ARHROPHORIDAE) В ЦЕНТРЕ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ

А. Д. Гусева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alenadmit48@gmail.com

Цель работы – изучение полиморфизма *Philaenus spumarius* в Нижегородской и Владимирской областях. Полиморфизм – это сосуществование в одном местообитании двух или нескольких различающихся форм одного и того же вида. Разные авторы указывают различное количество морф у пенницы обыкновенной, что может объясняться наличием переходов между морфами. По данным В.Е. Берегового и М. Рааткайнена для *P. spumarius* выделяют 20 чистых и 4 смешанных морф. Анализ литературных данных по полиморфизму *P. spumarius* в разных областях России и в странах западной Европы показывает тенденцию увеличения числа морф с севера на юг. Вторая выявленная тенденция связана с увеличением доли светлых морф с севера на юг.

Исследование проводили в летний период 2021 г. в Нижегородской области (окрестности г. Сергач) и во Владимирской области (окрестности пос. Никологоры). Качественные сборы проводились с растений стандартным методом кошения энтомологическим сачком. Для извлечения экземпляров из сачка использовался эксгаустер. Было сделано по 150 сборов и поймано 272 и 247 особей в Нижегородской и Владимирской областях соответственно. Для оценки полиморфизма *P. spumarius* в Нижегородской области были дополнительно использованы данные студенток Бекетовой (2008) и Митряевой (2020) по Воскресенскому району, Нижнему Новгороду и Пустыньскому заказнику. Общая оценка полиморфизма проводилась на основе 1722 особей, собранных во всех исследуемых локалитетах.

Наибольшим богатством отмечен юг Нижегородской области – там зарегистрировано 16 морф. В центре и на юго-востоке области – 14 морф, на севере – 12 морф. Следовательно, количество морф возрастает с севера на юг. Самой часто встречаемой морфой (около 70% от общего количества пойманных особей) во всех районах области оказалась *typica*, которая представлена особями с различной интенсивностью окраски и чередованием темных и светлых элементов рисунка на надкрыльях. Вторая по встречаемости светлая морфа *populi* чаще регистрировалась в центре и на юге области, и практически отсутствовала на севере в Воскресенском районе. Разнообразие темных морф *albomaculata*, *gibba*, *leucocephala*, *marginella* меньше всего на юге и юго-востоке области, и наоборот, разнообразие светлых морф, например *vittata*, возрастает к югу области (Пустыньский заказник). В центре Владимирской области было зарегистрировано 15 морф. Здесь также преобладала смешанная морфа *typica* во всех биотопах. В сухих, относительно светлых, хорошо прогреваемых биотопах, преобладали светлые формы. В биотопах с высоким уровнем влажности, высоким травостоем, затененностью, меньшей прогреваемостью преобладали темные морфы.

Таким образом, оценка полиморфизма пенницы обыкновенной в Нижегородской области сделана достаточно полно, поскольку данные имеются по разным частям области. Прделанная работа позволила подтвердить тенденции увеличения общего числа морф и доли светлых морф с севера на юг, которые были получены по другим областям России и в других странах.

ЗРИТЕЛЬНОЕ ВНИМАНИЕ И УПРЕЖДАЮЩЕЕ ТОРМОЖЕНИЕ В ЗАДАЧЕ СОЦИАЛЬНЫХ И НЕ СОЦИАЛЬНЫХ СИГНАЛОВ В СПЕКТРЕ АУТИЗМА

Н. Н. Давыдова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

natalyrsa@gmail.com

Расстройство аутистического спектра (РАС) характеризуется снижением внимания к социальным раздражителям. Мало известно о механизмах, которые способствуют уменьшению социального внимания. Теория социальной мотивации утверждает, что люди с РАС находят социальные стимулы менее полезными и поэтому менее охотно посещают занятия, чем дети с типичным развитием (ТД). Другие предполагают, что конкуренция со стороны ограниченных интересов (КИ) может лучше учитывать для пониженного внимания.

Пространственное внимание позволяет отбирать и обрабатывать актуальную сенсорную информацию в окружающей среде. Расстройство аутистического спектра (РАС) связано с дисфункцией пространственного внимания, которая может повлиять на их сенсорное восприятие. Социальные стимулы, такие как лица или глаза, меньше просматриваются и вызывают более быстрое отключение внимания у пациентов с РАС, чем у людей с типичным развитием (ТД). Однако значимость уникального социального периферийного объекта никогда не проверялась. Наша цель состоит в том, чтобы оценить ориентацию визуального внимания на лицо или несоциальный объект и отключение от него в парадигме сигналов. Предыдущие исследования с использованием парадигмы сигналов у субъектов с РАС дали различные результаты. Однако теперь мы хотим показать, что эта парадигма включает как зрительное внимание, так и упреждающее торможение, исполнительную функцию, предотвращающую неадекватные реакции на события, то есть сигнал в парадигме сигналов. Таким образом, смешанные результаты, наблюдаемые в предыдущих исследованиях, могут быть связаны с различиями в способности к торможению.

В рамках этой проблемы в текущем исследовании будут оцениваться обе теории использования двух парадигм для изучения профилей внимания у детей с РАС.

Для решения данной задачи в этом исследовании мы будем сравнивать внимание детей в возрасте от 6 до 17 лет с диагнозом РАС ($n = 16$) и группу детей с типичным развитием ТД ($n = 20$), используя метод айтрекинга. Распределение внимания будет количественно определено с помощью отслеживания взгляда во время пассивного задания «Просмотр квадранта РАС» (например, Harrison & Gibb, 2014) и задания визуального парного предпочтения (Sasson & Touchstone, 2014). Задания были разработаны для измерения того, как значимость объектов влияет на долю общего времени просмотра лиц. Дополнительно будут использованы три блока заданий на подсказки. Сигнал (подсказка) может быть либо социальным (лицо), либо несоциальным (бабочка) и предъявляться в трех возможных случаях перед целью. Фиксация будет контролироваться благодаря айтрекингу.

В результате проведенного исследования мы ожидаем получить рассогласование с теорией социальной мотивации и ограниченности интересов (КИ) у двух испытуемых групп, а также получить возможную связь между вариабельностью задач на внимание у субъектов с РАС с различиями в способностях к торможению по сравнению с контрольной исследуемой группой.

ФЛОРИСТИЧЕСКОЕ И ФИТОЦЕНОТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОКРЕСТНОСТЕЙ ПОСЕЛКА ЖЕЛНИНО

Д. А. Дегтярев

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
degtyarev.dmtr@gmail.com

Синтаксономия является центральной частью фитоценологии. Растительные сообщества обладают невысоким уровнем целостности, в синтаксонах низких рангов редко представлены диагностические виды высших единиц. Это обуславливает сложность выделения синтаксономических единиц и установление диагнозов сообществ. Кроме этого, синтаксономия широко используется при решении задач сохранения биоразнообразия, является основой изучения динамики растительности, так как позволяет установить сукцессионные последовательности. Перспективы дальнейшего использования синтаксономии прослеживаются также в составлении с ее помощью легенд к геоботаническим картам. Целью данной работы является исследование различных фитоценозов окрестностей пос. Желнино (Дзержинский район), относящихся к памятнику природы регионального значения «Желнино-Пушкино-Сейма».

Материалом для настоящей работы послужили геоботанические описания широколиственных и луговых сообществ, сосняков, а также двух пойменных дубрав, полученные в период с середины июня по конец августа 2021 г. Описания проводились по стандартной методике геоботанического описания. Обилие-покрытие видов было дано по шкале Браун-Бланке. Сортировка данных и выделение синтаксонов также проводилось методом Браун-Бланке с процедурой «табличной сортировки» на основе Microsoft Excel.

В результате выделенные синтаксоны были охарактеризованы в соответствии с «Международным кодексом фитосоциологической номенклатуры». Проведено сравнение выделенных синтаксонов с существующими для Нижегородской области. Проведен флористический анализ выделенных синтаксонов с целью получения информации об их самостоятельности или ранге.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА ЦВЕТНОСТИ ЩЕЛОЧНЫХ РАСТВОРОВ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

М. С. Дерягина, О. М. Конюхова

Поволжский государственный технологический университет, 424000, Республика Марий Эл,
Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3; *rina_2432@mail.ru*

Гуминовые кислоты – наиболее реакционноспособная фракция гумусовых кислот, растворимая в щелочной среде и нерастворимая в воде и кислой среде, которая образует легко растворимые в воде соли с одновалентными катионами (K^+ , Na^+ , NH_4^+) и нерастворимые – с двух- и трехвалентными катионами (Ca^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+}).

Гуминовые кислоты имеют разветвленную молекулярную структуру, включающую большое количество функциональных групп и активных центров, в них содержатся: азот, калий, фосфор, а также такие микроэлементы, как молибден, медь, цинк, железо и т.д., все это обуславливает физические, химические и биологические свойства гуминовых кислот и их влияние на растения и почву. Следует отметить, что невозможно вывести постоянную полную формулу гуминовых кислот из-за их переменного состава.

Оптические свойства в видимой области спектра могут отражать качественные различия гуминовых кислот в зависимости от их структуры, происхождения, методов выделения, очистки и других факторов.

Для характеристики спектров поглощения в видимой области используется коэффициент цветности $Q_{4/6}$ – отношение экстинкций при длинах волн 465 нм и 665 нм. Коэффициент цветности связан с большей или меньшей сложностью строения молекул гуминовых кислот.

Целью данной работы являлось исследование коэффициента цветности щелочных растворов гуминовых кислот, выделенных из сапропеля различных месторождений. Пробы сапропеля были отобраны из водных объектов Республики Марий Эл: озеро Посьяр Килемарского района и озеро Табашино Оршанского района. Гуминовые кислоты из полученных образцов сапропеля были выделены по ГОСТ 9517-94. «Топливо твердое. Методы определения выхода гуминовых кислот».

Щелочные растворы гуминовых кислот (1 мл) были доведены дистиллированной водой до 100 мл, перемешаны. Далее были сняты спектры поглощения при длинах волн 465 нм и 665 нм. На основании полученных данных был рассчитан коэффициент цветности $Q_{4/6} = E_{465}/E_{665}$.

Для щелочного раствора гуминовых кислот, полученного из образца сапропеля озера Табашино – $Q_{4/6} = 6,67$; для образца сапропеля озера Посьяр – $Q_{4/6} = 6,89$.

Полученные по исследуемым образцам результаты могут свидетельствовать о высокой биологической активности сапропеля, залегающего в водных объектах Республики Марий Эл.

Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБУ «Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» в рамках программы У.М.Н.И.К. № № 16178ГУ/2020.

РОЛЬ ГЕРАНИЛГЕРАНИЛТРАНСФЕРАЗЫ I В РЕГУЛЯЦИИ РАЗВИТИЯ ТАЛЛОМА *MARCHANTIA POLYMORPHA*

С. М. Джабраилова, М. Р. Шарипова, Л. Р. Валеева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
penguinaz00@gmail.com

Переход от одноклеточного плана строения к многоклеточному является одним из наиболее значимых этапов эволюции эукариот, однако молекулярные механизмы этого перехода остаются недостаточно изученными. Многоклеточным организмам характерны такие свойства, как межклеточная коммуникация, дифференциация и специализация клеток, апоптоз. Все эти процессы регулируются множеством белков, включая G-белки. В свою очередь, многие из этих белков подвергаются присоединению пренильных остатков (фарнезила и геранилгеранила) под действием ферментов пренилтрансфераз, что обеспечивает способность этих белков интегрировать в липидные мембраны клеток. Разнообразие функций пренилированных белков указывает на особую роль данной посттрансляционной модификации в регуляции развития многоклеточных организмов. Перспективными модельными организмами для изучения механизмов регуляции и эволюциимногоклеточности являются растения, в частности, бриофиты, как представители одной из наиболее древних групп наземных растений. Целью работы было изучение роли пренилтрансфераз белков в развитии многоклеточного таллома у печеночника *Marchantia polymorpha*.

Методом редактирования генома CRISPR/Cas9 нами были получены линии *M. polymorpha* с нокаутированным геном β -субъединицы (GGB) геранилгеранилтрансферазы I (PGGT I). Растения-нокауты сохраняли жизнеспособность и многоклеточное строение, однако не были способны образовывать характерный дорсо-вентральный таллом и состояли из нетипичных округлых клеток, собранных в плотные каллусоподобные структуры. Стоит отметить, что для животных аналогичная мутация является летальной, у растения *Arabidopsis thaliana* не вызывает заметных морфологических изменений, а у *Physcomitrella patens* приводит к росту в виде отдельных клеток, что в очередной раз указывает на различия в эволюционных путях формирования многоклеточности у растений и животных. Мы предполагаем, что сходные фенотипы мутантных линий *Ph. patens* и полученного нами мутанта Δggb могут быть обусловлены нарушением в процессе пренилирования белков-мессенджеров. На основе нокаутных линий растений *M. polymorpha* были получены растения-комплементанты с восстановленным фенотипом растений дикого типа, экспрессирующие ген GGB, сопряженный с геном флуоресцентного белка. Таким образом, мы подтвердили, что PGGT I участвует в формировании нормального таллома растений. Также было показано, что β -субъединица PGGT I локализуется в цитоплазме клеток растений-комплементантов.

Далее провели протеомный анализ растений-мутантов Δggb , что позволило выявить различия в экспрессии мембранно-связанных и цитоплазматических белков у растений дикого типа и мутантных линий. Было обнаружено, что белки мутантного растения главным образом связаны с процессами фотосинтеза, биосинтеза белка и стрессовым ответом. У мутантных растений отсутствуют фасцилин-подобные арабиногалактаны, также отвечающие за регуляцию роста и развития растения, а также белки, отвечающие за формирование мембран и клеточной стенки, регуляцию метаболизма и ответ на биотические и абиотические стрессовые факторы

Таким образом, было показано, что пренилтрансфераза PGGT I является одним из ключевых компонентов молекулярных путей, обеспечивающих нормальное формирование многоклеточного таллома растений *M. polymorpha*. В дальнейшем мы планируем провести анализ экспрессии генов обнаруженных белков, что позволит выявить генетические факторы и пути, задействованные в регуляции многоклеточности у растений.

Работа выполнена в рамках проекта, поддержанного Стипендией Президента РФ СП-3391.2021.4.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ДЕФИЦИТА ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ В 2D- И 3D-УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

О. Е. Добрынина, Л. М. Сенча, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dobrynina.oo@yandex.ru

Микроокружение клеток в организме играет важную роль в развитии многих патологических процессов, включая опухолевый рост. Оно является одним из важнейших факторов, поддерживающих существование опухолевых клеток в условиях дефицита питательных веществ и определяющих их устойчивость к тем или иным воздействиям. Показано, что чувствительность клеток в трехмерной культуре с добавлением компонентов матрикса схожа с таковой у опухоли в организме, в чем выражается преимущество этой 3D-модели перед монослоем при проведении фундаментальных и прикладных исследований. Лишение, или депривация, питательных веществ в условиях *in vitro* для опухолевых клеток моделирует дефицит питательных веществ, возникающий при быстром росте опухоли *in vivo*.

Целью нашей работы являлся сравнительный анализ влияния сывороточной и глюкозной депривации на рост опухолевых клеток в условиях монослоя и 3D-культуры на основе коллагенового гидрогеля. Работа выполнена на клетках линий SKOVip-kat и A431-GFP. SKOVip-kat – клетки карциномы яичника человека SKOV-3.ip с геном красного флуоресцентного белка TurboFP635 (Katushka). A431-GFP – клетки эпидермоидной карциномы человека A431, трансфицированные геном зеленого флуоресцентного белка GFP.

Для получения монослоя клетки данных линий рассеивали в 96-луночный планшет в количестве 500, 1000 и 2000 клеток на лунку. Через 24 часа начинали сывороточную или глюкозную депривацию, в контрольных лунках оставляли полную ростовую среду.

Жизнеспособность клеток оценивали с применением МТТ-теста. Культуру клеток в коллагеновом гидрогеле получали путем добавления в раствор коллагена I суспензии клеток с дальнейшей его полимеризацией. Депривацию питательных веществ начинали на четвертые сутки, в контрольных гелях опухолевые клетки находились в условиях полной ростовой среды. Мониторинг жизнеспособности клеток в коллагеновом матриксе осуществляли путем регистрации флуоресценции на установке для поверхностного флуоресцентного имиджинга DVS-03 без деструкции гелей или нарушения стерильности.

В ходе работы было показано, что в зависимости от условий культивирования ответ клеток на депривацию может существенно отличаться. Для клеток обеих линий в монослойной культуре после смены на бессывороточную среду на протяжении 3 дней было зарегистрировано замедление пролиферации. В коллагеновом геле для клеток линии A431-GFP в условиях дефицита сыворотки характерен дальнейший рост культуры, не отличающийся от такового в контрольных гелях, тогда как клетки линии SKOVip-kat после начала сывороточной депривации отвечали значительным подавлением роста и гибелью клеток.

На недостаток глюкозы клетки данных линий реагировали иначе. Монослой клеток линии A431-GFP оказался более восприимчив к дефициту глюкозы, а у SKOVip-kat выраженного ответа не было. При переходе к 3D-условиям культивирования клетки линии A431-GFP показали повышение устойчивости к глюкозной депривации. Для клеток линии SKOVip-kat в коллагеновом матриксе было характерно отсутствие ответа на дефицит глюкозы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что присутствие коллагенового матрикса, в частности коллагена I типа, может значительно модифицировать ответ клеток на различные воздействия, соотносимые с развитием опухоли *in vivo*. В зависимости от особенностей разных клеточных линий может наблюдаться как повышение, так и понижение устойчивости опухолевых клеток к изменениям окружающей их среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-20168).

ОЦЕНКА СРЕДООБРАЗУЮЩИХ ЭКОСИСТЕМНЫХ УСЛУГ ОЗЕЛЕНЕННОЙ ТЕРРИТОРИИ МУНИЦИПАЛЬНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ «АВТОЗАВОДСКИЙ ПАРК»

В. В. Добрынская, Н. И. Зазнобина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
super.cool-vika2012@yandex.ru

Одной из главных причин глобального потепления является увеличение концентрации углекислого газа. Деревья способны связывать большую часть углекислого газа в процессе своего развития и высвобождать его обратно в атмосферу в результате отмирания. В данной работе была проведена оценка средообразующих экосистемных услуг (секвестрация углерода, биоразнообразие и его стоимостная ценность), предоставляемых древесными насаждениями муниципального предприятия «Автозаводский парк». Общая площадь объекта исследования составляет 69,9 га. Было обследовано 13546 стволов деревьев, относящихся к 20 видам.

Секвестрация углерода растениями исследуемой территории определялась согласно Распоряжению Министерства природных ресурсов и экологии РФ № 20 от 30.06.2017 (ред. от 20.01.2021) «Методические указания по количественному определению объема поглощения парниковых газов». На начальном этапе исследований был проведен анализ древесной растительности, в ходе которого определены видовой состав, высота дерева, диаметр ствола и ширина кроны. По предложенной формуле с учетом коэффициентов аллометрического уравнения высоты дерева и диаметра ствола было рассчитано общее количество запасов углерода, которое составило 313,22 тонны. После этого была рассчитана стоимостная оценка запасов углерода по методике «Агентства по охране окружающей среды США» (2016), которая составила 3,154 млн. руб. Биоразнообразие также играет немаловажную роль в правильном функционировании экосистем и в пользу, которую они оказывают на жителей урбанизированных территорий. По стандартным формулам были рассчитаны индекс разнообразия Шеннона ($H = 3,73$), индекс доминирования Симпсона ($C = 0,10$) и индекс Пиелу ($e = 0,86$). По полученным значениям индексов можно сделать вывод об относительной выравненности изучаемого сообщества. Экономическая оценка биологического разнообразия была рассчитана для зеленых насаждений парка согласно Постановлению № 376 от 21.06.2016 (с изменениями от 01.02.2018) «Правила проведения компенсационного озеленения и определения компенсационной стоимости зеленых насаждений в Нижегородской области» и Методика расчета компенсационной стоимости при уничтожении (вырубке, сносе) и (или) повреждении зеленых насаждений и компенсационного озеленения:». Если взять во внимание, что весь зеленый массив Автозаводского парка может быть вырублен по различным причинам, а затем снова посажен, то восстановительная стоимость составит 237,210 млн. руб.

По полученным результатам можно сделать вывод о том, что, несмотря на доминирование липы *Tilia cordata*, больше всего углерода улавливается и связывается деревьями вяза *Ulmus glabra*. Это связано с шероховатой поверхностью листьев, которая в наибольшей степени задерживает CO_2 из атмосферного воздуха. Восстановительная стоимость будет наибольшей для *T. cordata*, *Fraxinus excelsior* и *U. glabra*, так как они преобладают в видовом составе зеленых насаждений парка.

Таким образом, для того чтобы увеличить потенциал древесно-кустарниковой растительности муниципального предприятия «Автозаводский парк» в предоставлении средообразующих экосистемных услуг, необходимо проводить мероприятия по лесоразведению быстрорастущих видов деревьев, таких как *T. cordata* и *U. glabra*. Альтернативным способом по повышению улавливающей способности деревьев будет высадка хвойных пород, так как они являются наиболее интенсивными поглотителями парниковых газов.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ АНАЭРОБНОГО ИЛА ПРИ ДВУХСТУПЕНЧАТОМ СБРАЖИВАНИИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Д. Ю. Дорожкина¹, Э. Р. Михеева², Е. А. Журавлева³, Ю. В. Литми³

¹Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, 603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
biomikheeva@gmail.com

³ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33/2

Молочная промышленность является одним из основных источников образования промышленных стоков, таких как молочная сыворотка (МС). Перспективным способом переработки МС является анаэробное сбраживание (АС) с образованием биогаза. В процессе АС можно выделить четыре основные стадии. В гидролизной и ацидогенной стадиях органические полимеры расщепляются на более простые растворенные (кислоты, спирты) и газообразные (H_2 , CO_2) продукты. Эти продукты метаболизируются далее в уксусную кислоту в ацетогенной стадии и в смесь CH_4 и CO_2 – в метаногенной. В двухступенчатом АС две первые и две последние стадии пространственно разделяют, в результате получают соответственно, H_2 - и CH_4 -содержащие биогазы. В результате такого разделения микробиом, формирующийся в одноступенчатой и двухступенчатой системах, различается. Чтобы оптимизировать процесс образования биогаза и управлять им, важно иметь представление об анаэробном микробиоме, о том, как он реагирует на различные условия. Целью данной работы было определение видового изменения мезофильного кислотогенного и термофильного метаногенного инокулятов при изменении нагрузки на реактор.

Процесс АС проводили в двухступенчатом мезофильно-термофильном режиме в реакторах типа биофильтр. МС была отобрана на предприятии производства творога (ХПК 64–68 г O_2 /л). Для H_2 -образующего реактора (RH) был использован смешанный инокулят из кислотогенного реактора, перерабатывающего МС в мезофильном режиме. Для метаногенного реактора (RM) был использован смешанный инокулят из анаэробного реактора, перерабатывающего модель пищевых отходов в термофильном режиме. Для иммобилизации инокулята в RH и RM использовали кусочки полиуретановой пены. В ходе эксперимента увеличивали нагрузку на микробное сообщество путем ступенчатого увеличения ХПК разбавленной МС с 6,8 до 13,8 г O_2 /л. Доминирующими продуцентами H_2 в микробном сообществе RH были представители *Clostridium s. str. 12* и *Caproiciproducens*. Основу H_2 не продуцирующего микробного сообщества составляли молочнокислые бактерии *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, и группа бродильщиков *Prevotella_7*.

Иммобилизация на полиуретане повышала содержание *Clostridium s. str. 12* и *Lactobacillus* в RH два раза в сравнении с не иммобилизованным илом, при этом в три раза снижалось количество *Bifidobacterium*, которые являются чувствительными к изменению условий среды, количество *Caproiciproducens* и *Prevotella_7* изменялось незначительно. Состав микробного сообщества в RM менялся при повышении нагрузки: в архейном сообществе, изменение количества гидрогенотрофов рода *Methanothermobacter* происходило волнообразно, а содержание *Methanobacterium* постепенно нарастало. В бактериальном сообществе RM основными доминирующими родами были молочнокислые *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*; при повышении нагрузки их количество снижалось, при этом возрастало количество, предположительно, синтрофных групп *Clostridium Clostridium s. str. 12*, гидролитических и бродильных микроорганизмов родов *Defluviitoga*, *Acetomicrobium*, *Proteiniphilum*, *Hydrogenispora* и групп *Clostridium Clostridium s. str. 7* и *Clostridium Clostridium s. str. 10*. Иммобилизация способствовала обогащению сообщества, предположительно, синтрофными и полу-синтрофными группами и родами: *Clostridium Clostridium s. str. 12*, *Lentimicrobium* и *Coprothermobacter*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 21-79-10153).

ТРЕТ-БУТИЛГИДРОПЕРОКСИД В КАЧЕСТВЕ ИНДУКТОРА ПЕРОКСИДНОГО ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ

Н. А. Дубенская¹, Е. М. Соколова², Б. Л. Психа², Н. И. Немев²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1/51; *Cyber-shop@mail.ru*

²Институт проблем химической физики РАН, 142432, Черноголовка Московской обл., просп. акад. Семенова, 1

Известно, что при нарушении работы антиоксидантной системы в клетках возрастает количество активных метаболитов кислорода, которые вызывают разнообразные оксидативные повреждения, приводящие клетку к состоянию окислительного стресса. Одним из наиболее опасных проявлений окислительного стресса является пероксидное окисление липидов (ПОЛ) мембран, приводящее к развитию явлений т.н. мембранной патологии, лежащих в основе патогенеза целого ряда заболеваний, среди которых сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет. Эффективным средством фармакологической коррекции оксидативных повреждений мембран служат биоантиоксиданты. В связи с этим не теряет своей актуальности и практической значимости развитие биологических моделей, на которых осуществляется тестирование химических соединений на антиоксидантную активность. Эффективность разрабатываемой модели в первую очередь определяется качеством инициирования ПОЛ в биологическом субстрате. Это позволит эффективно дифференцировать антиоксидантную составляющую в действии химических соединений на биологический объект.

Работа посвящена исследованию гемолиза эритроцитов под действием трет-бутилгидропероксида (t-BuOOH) в качестве инициатора пероксидного окисления липидов.

В период времени, предшествующий началу гемолиза, было обнаружено нарастание уровня ТБК-реактивных продуктов в мембранах эритроцитов, зависящее от концентрации t-BuOOH, что свидетельствовало об активации ПОЛ.

В широком диапазоне концентраций была исследована кинетика гемолиза 0,2%-ной суспензии эритроцитов мыши под действием t-BuOOH. Данное соединение вызывало концентрационнозависимый гемолитический эффект. Гемолитическую активность t-BuOOH количественно характеризовали временем достижения 10% уровня гемолиза – период индукции гемолиза. Зависимость периода индукции гемолиза от начальной концентрации t-BuOOH была существенно нелинейной и хорошо аппроксимировалась затухающей биэкспоненциальной функцией вида $y = A_1 e^{-k_1 C} + A_2 e^{-k_2 C} + y_0$, выходящей на стационарный уровень при высоких концентрациях t-BuOOH. Такой характер зависимости может указывать на присутствие в системе двух различных факторов или процессов, влияющих на гемолитический процесс противоположным образом, что проявляется в уменьшении гемолитического отклика системы на воздействие с ростом концентрации инициатора. С этим также согласуется более ранний выход гемолитических кривых на плато при самых высоких концентрациях t-BuOOH ($2 \cdot 10^{-4}$ и $4 \cdot 10^{-4}$), указывающий на наступление равновесия по осмотическому давлению и остановку гемолиза.

На основе полученных результатов делается вывод, что под действием t-BuOOH в условиях нашего эксперимента происходит активация ПОЛ эритроцитарной мембраны, что указывает на принципиальную возможность использования t-BuOOH в качестве инициатора пероксидного гемолиза эритроцитов. Вместе с тем исследование кинетики гемолиза эритроцитов показывает, что взаимодействие t-BuOOH с клеткой может включать процессы, не ограничивающиеся пероксидацией липидного субстрата. Это обстоятельство следует учитывать при возможном практическом использовании t-BuOOH в качестве индуктора пероксидного гемолиза в эритроцитах.

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СТРЕССА НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ ИММУНИТЕТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

А. А. Дунаевская¹, А. В. Дерюгина², М. Н. Иващенко^{1,2}, М. Н. Таламанова²

¹Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *nastya1201@bk.ru*

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Интенсивная технология производства в промышленных животноводческих комплексах сопровождается воздействием на животных различных стресс-факторов, проявляющимся угнетением иммунного статуса.

Интегральным показателем состояния гуморального звена неспецифической резистентности является бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК). Она опосредована простыми белками (лактоферрин, трансферрин, интерферон, интерлейкин-1,-6,-8, фактор некроза опухоли, фактор активации тромбоцитов, лизоцим, фибронектины), сложными белками (комплемент, фибринопептиды), белками острой фазы воспаления (гаптоглобин, фибриноген, С-реактивный белок и др.). Поскольку бактерицидная активность сыворотки крови определяется многими факторами, включая и лизоцим, представляет интерес выявление конкретной роли лизоцима в поддержании гуморальной неспецифической резистентности организма коров в состоянии технологического стресса.

Цель исследований — изучить состояние гуморального звена неспецифического иммунитета у коров в условиях технологического стресса, связанного с перегруппировкой и перемещением в условиях промышленного животноводческого комплекса.

Исследования проведены на клинически здоровых высокопродуктивных коровах чернопестрой породы. У коров (n=6) для изучения динамики показателей естественной резистентности за день до технологического стресса и через 3, 14 и 30 дней после него брали кровь из яремной вены в средней трети шеи в утренние часы до кормления животных. В крови определяли бактерицидную (БАСК), лизоцимную (ЛАСК) активность сыворотки крови в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных» (2005). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica, оценку достоверности — по критерию Стьюдента.

При изучении состояния гуморального звена неспецифического иммунитета установлено, что у коров на 3 сутки после технологического стресса достоверно снизилась бактерицидная активность сыворотки крови на 13,5%, что связано с угнетением общей гуморальной неспецифической защиты, после чего она увеличилась на 14 сутки на 10,8% по сравнению с предыдущим показателем и на 30 сутки показатель практически достиг фонового уровня.

После технологического стресса у коров на 3 и 14 сутки отмеченное увеличение лизоцимной активности сыворотки крови на 12,7% и 9,4% соответственно и достоверное снижение на 14,1% к 30 суткам, по всей видимости, свидетельствует о роли лизоцима в снижении антигенной нагрузки на животных в условиях стресса на начальных этапах с последующим истощением данной ферментативной системы при инаktivации циркулирующих бактериальных патогенов.

Таким образом, технологический стресс в условиях промышленного животноводческого комплекса вызывает неоднозначную динамику гуморальных факторов иммунной системы, что необходимо учитывать при анализе адаптационных возможностей животных.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта №22-26-00311.

АНАЛИЗ ЧАСТОТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭЭГ МОЗГА САМОК КРЫС ЛИНИИ WAG/Rij ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ *PULMONARIA OBSCURA*

А. М. Еникеева, И. И. Садртдинова

Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
enikeeva.aliya.98@gmail.com

Сегодня все большую популярность при лечении различных заболеваний, особенно хронических, набирает применение фитопрепаратов. Выбор в пользу растительного сырья происходит благодаря их менее токсичному составу, который не вызывает побочных действий по сравнению с синтетическими препаратами. На территории Республики Башкортостан произрастают множество травянистых растений, которые с давних времен применялись в народной медицине. Одним из наиболее распространенных родов является *Pulmonaria* (медуница). Растения рода *Pulmonaria* применяют при различных заболеваниях дыхательных путей, они обладают кровоостанавливающим и обезболивающим действиями, стимулируют кроветворение, регулируют деятельность желез внутренней секреции, нормализуют обмен веществ, а также применяются при лечении нервных заболеваний.

Особый интерес вызывает применение лекарственных растений при неврологических заболеваниях, в частности эпилепсии. Ежегодно численность людей с диагнозом растет. В связи с этим, поиски альтернативного способа лечения встает довольно остро, так как применение фармакологических препаратов имеют побочные действия.

Целью нашей работы стал анализ частотных показателей ЭЭГ самок крыс линии WAG/Rij при пероральном введении *P. obscura*.

В нашем исследовании рассматривалась эффективность 35-тидневного применения водного настоя травы *P. obscura*. Результаты оценивались по данным, полученных путем регистрации электроэнцефалограммы (ЭЭГ) из фронтальной доли мозга крыс. Эксперимент проводился на половозрелых самках крыс линии WAG/Rij ($n=10$). Настой был приготовлен в расчете 30 г на 200 мл воды и вводился пероральным путем ежедневно в одно и то же время, в качестве контроля животным вводился физиологический раствор. Регистрация ЭЭГ проводилась еженедельно на 7-ой, 14-ый, 21-ый, 28-ой и 35-ый дни приема отвара травы с использованием программного обеспечения «Нейрон-Спектр. NET» с помощью монополярных игольчатых электродов на 8-канальном электроэнцефалографе «Нейрон Спектр-1В» для ветеринарии. Математико-статистическую обработку данных производили с использованием лицензионного пакета прикладных программ «STATISTICA» v.12.0 (Stat Soft Inc., США).

Обработав данные частотного анализа, мы выявили, что к 28-му дню приема отвара травы медуницы неясной у самок достоверно снижаются показатели высокочастотного бета-ритма с $5,98 \pm 0,63\%$ до $3,72 \pm 0,56\%$. Полученные результаты демонстрируют, что животные на момент регистрации ЭЭГ были в спокойном состоянии. Поскольку бета-ритм отвечает за состояние бодрствования, беспокойства, страха и паники, то снижение показателя данного ритма отражает терапевтическое действие отвара травы. Мы предполагаем, что растение *P. obscura* обладает успокаивающим действием за счет содержания в нем аскорбиновой и розмариновой кислот, флавоноидов и антоцианов и других микроэлементов, которые нормализуют действие центральной нервной системы.

ОСОБЕННОСТИ РЕКОМБИНАЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ НЕИОНИЗИРУЮЩИХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Н. В. Ергольская

Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, 248023, Калуга,
ул. Степана Разина, 26; *ergnat@gmail.com*

Настоящая работа посвящена исследованию влияния некоторых видов электромагнитных излучений (ЭМИ) на частоту мейотической рекомбинации (rf) – универсального генетического процесса, отражающего функциональное состояние гамет и характеризующегося высокой чувствительностью к разнообразным воздействиям.

Воздействию ЭМИ подвергали гетерозигот *Drosophila melanogaster* (+++/bcnvg и ++++/uctvf) на различных стадиях онтогенеза, соответствовавших определенным этапам формирования гамет. Обработку объекта низкоинтенсивными ЭМИ осуществляли с помощью импульсного инфракрасного лазерного излучения (ИК НИЛИ) ($\lambda=890$ нм), излучения крайне высокой частоты (КВЧ) (длины волн от 5,6 до 3,8 мм), лазерного излучения (НЛИ) красной области спектра ($\lambda=640$ нм).

Зависимость рекомбинационных эффектов ИК НИЛИ от дозы носила немонотонный характер и характеризовалась региональной и стадиоспецифичностью. Изменения rf наблюдались только при определенном сочетании параметров лазерного воздействия и преимущественно в прицентромерном районе *b-cn* хромосомы 2. Обработка объекта в период размножения оогониев, формирования первых ооцитов или на завершающих этапах созревания гамет приводила к активации рекомбинационного процесса при использовании относительно низких доз и к его подавлению - в случае применения более высоких. При облучении эмбрионов низкие дозы НИЛИ вызвали подавление рекомбинации, более высокие дозы не оказывали заметного влияния на rf . Показана относительно низкая чувствительность медианного сегмента *cn-vg* хромосомы 2 по отношению к ИК НИЛИ. Выявлен разнонаправленный характер ответной реакции исследуемых хромосом и их сегментов на применяемое воздействие: изменения rf в ряде районов X-хромосомы сопровождалось либо отсутствием эффекта в изучаемых интервалах хромосомы 2, либо рекомбинационным эффектом противоположной направленности. Почти во всех случаях индуцированная НИЛИ модификация кроссинговера наблюдалась лишь в одном из соседних районов, не сопровождаясь достоверными изменениями генетической интерференции. Отклонения величины коэффициента коинцидентности от контрольных значений были отмечены при использовании ряда параметров ИК НИЛИ, неэффективных в отношении изменения одинарного перекреста. При этом в основном наблюдалось значительное усиление интерференции ($C < 1$), обуславливающей полное или почти полное отсутствие двойных кроссоверов.

Облучение низкими дозами ЭМИ КВЧ самок-гетерозигот на стадии первичных половых клеток и на стадии размножения оогониев вызвало повышение rf в интервале *b-cn*. При этом в интервале *cn-vg* было отмечено антирекомбиногенное действие более высоких доз ЭМИ КВЧ. В результате облучения объекта на стадии формирования первых ооцитов в прицентромерном районе *b-cn* при некоторых дозах наблюдалась активация рекомбинационного процесса, при этом в интервале *cn-vg* ЭМИ КВЧ действовало как антирекомбиноген. Облучение самок-гетерозигот на завершающих стадиях развития гамет при определенных дозах привело к достоверному снижению rf в интервалах *b-cn*. и *cn-vg*.

НЛИ в некоторых дозах вызвало повышение rf в интервале *b – cn* хромосомы 2 и снижение rf в интервалах *y – ct*, *ct – v* и *y – v* хромосомы 1. Выявлены достоверные изменения силы генетической интерференции при воздействии НЛИ с некоторыми параметрами. Особенности рекомбинационной эффективности ЭМИ требуют дальнейшего изучения для определения безопасных параметров используемого вида ЭМ воздействия на индивидуальное развитие организма и функционирование его наследственных структур.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА В ПОДРОСТКОВОМ ВОЗРАСТЕ НА АКТИВНОСТЬ И ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ НА МОДЕЛИ МЫШЕЙ C57BL/6

Н. А. Еремеева¹, Д. М. Кузьмина^{1,2}, Н. А. Щелчкова^{1,2}, И. В. Мухина^{1,2}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *plyushka240899@mail.ru*

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Изучение социального поведения и связанных с ним процессов в нервной системе позволяет исследовать механизмы нарушений различных форм активности. Для изучения социальных конфликтов, в частности - буллинга, используется животная модель хронического социального поражения. Буллинг – агрессивное поведение, проявляемое более сильным индивидом или группой в отношении более слабых. Данная модель позволяет выявлять ключевые закономерности, лежащие в основе стресс-обусловленных и аффективных патологий нервной системы.

Целью исследования является изучение влияния хронического социального стресса в подростковом возрасте на исследовательскую и двигательную активность в отдаленном периоде на модели самцов мышей линии C57BL/6.

Исследование проводилось на мышах линии C57BL/6 (самцы), возраст 20 дней, n=26. Моделирование буллинга осуществлялось по парадигме социального поражения (схема «резидент - интродер») с 20 по 29 дни постнатального развития (ПР). Контроль эксперимента осуществлялся путём исследования интактной группы животных. Для мониторинга изменений поведенческого фенотипа использовались следующие поведенческие методики: лабиринт Барнс, тест вынужденного плавания Порсолта, тест «открытое поле». Поведенческое фенотипирование проводилось на 58-74 дни ПР.

В ходе фенотипирования были показаны следующие результаты. При исследовании базовой активности в тесте «открытое поле» было показано статистически значимое увеличение пройденного расстояния, средней скорости, количества вертикальных стоек и общей длительности принюхиваний; также наблюдалась тенденция к снижению общей длительности груминга и замираний, что говорит о снижении тревожности. В тесте вынужденного плавания Порсолта при исследовании депрессивного поведения выявлена тенденция к увеличению общей длительности плавания и клаймбинга, увеличению латентного периода до первого замирания и снижению времени, проведённого неподвижно. В исследовании пространственного ориентирования в лабиринте Барнс на этапе обучения для экспериментальных животных был характерен более быстрый переход от случайной стратегии поиска к последовательной и затем к пространственной по сравнению с интактной группой. При этом животные экспериментальной группы совершали меньше первичных ошибок при поиске эвакуационного тоннеля со второго дня обучения. Латентный период эвакуации в экспериментальной группе был статистически значимо ниже с третьего дня обучения. При проверке памяти животные экспериментальной группы демонстрировали тенденцию к снижению количества ошибок и уменьшению латентного периода эвакуации; результаты, полученные в тесте «лабиринт Барнс», свидетельствуют об улучшении способности к пространственному ориентированию и росту обучаемости.

Таким образом, моделирование социального поражения в подростковом возрасте вызывает увеличение двигательной и исследовательской активности, в том числе и в условиях жесткого комбинированного стресса, и улучшение способности к ориентации в пространстве в отдалённом периоде.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СТРЕСС ПРИ ПРОМЫШЛЕННОМ ПРОИЗВОДСТВЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ПУТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

А. И. Ерзутов¹, М. С. Лодяной¹, А. В. Дерюгина², М. Н. Иващенко^{1,2}

¹Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97; *kafedra2577@mail.ru*

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Увеличение темпов экономического роста в сочетании с ростом населения создает предпосылки увеличения потребления животного белка, в связи с чем, интенсификация отрасли молочного и мясного скотоводства является актуальной задачей. Одной из основных биологических технологий, применяемых в животноводстве, до сих пор является искусственное осеменение. Для успешного ведения искусственного осеменения важнейшим фактором считается качество генетического материала быков-производителей. К сожалению, в условиях промышленного производства часто встречающиеся стресс-факторы, такие как перегоны и перестановки животных, резкие скачки температуры воздуха и атмосферного давления, изменения состава рациона, нарушения режима использования быков приводят к не только к ухудшению качества спермы, но зачастую к полной потере плодовитости. В условиях нашего регионального предприятия ООО «Нижегородское» по племенной работе «простой» высокоценных быков-производителей канадской, голландской и датской селекции приводит к серьезному экономическому ущербу.

Целью исследования ставился поиск эффективных решений по предотвращению и минимизации влияния стресс-факторов при производстве генетического материала. В настоящее время в ветеринарной медицине и животноводстве для воздействия на самые различные патологические процессы используется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ). Эффективность использования НИЛИ обусловлено, в частности, тем, что одним из пусковых механизмов в патогенезе стресса является липопероксидация мембран, т.е. мембранодестабилизирующие процессы. В связи с вышеизложенным, было изучено влияние НИЛИ на активность сперматозоидов при облучении свежеполученных эякулятов быков-производителей. Было подобраны 4 группы эякулятов от одних и тех же быков ($n=9$), которые облучали НИЛИ с помощью аппарата - автономный лазерный душ «МарСИК» (НПО «Петролазер», Санкт-Петербург) с длиной волны 830 нм при экспозиции 5, 10, 15 минут и один эякулят оставался интактным, после чего всю сперму разбавляли и замораживали по общепринятой методике. Через 7 дней после заморозки по одной дозе из каждой группы оттаивали и проверяли ее показатели на спермоанализаторе SPA-500 («Биола», Москва), определяли количество и процент подвижных сперматозоидов, процент быстро и медленноподвижных, а также среднюю скорость движения.

При анализе полученных данных выявлено повышение показателей активности спермы, облученной НИЛИ при экспозиции 10 и 15 минут в среднем на 5–10% по сравнению с контрольной группой и группой при экспозиции 5 минут. Показатели групп с экспозицией 10 и 15 минут между собой достоверно не отличались, что позволяет сделать вывод о положительном влиянии НИЛИ при экспозиции 10 минут на жизненные показатели сперматозоидов быков-производителей.

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO* ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И *IN VIVO* БИОСОВМЕСТИМОСТИ АЛЬГИНАТНЫХ МИКРОКАПСУЛ С ПОЛИМЕРНЫМ ПОКРЫТИЕМ (РМОТА) ПРИ ИНКАПСУЛЯЦИИ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА И ИХ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

П. С. Ермакова¹, М. А. Батенькин², Н. А. Леньшина², С. А. Чесноков²,
В. Е. Загайнов¹, Е. В. Загайнова^{1,3}, А. В. Кашина¹

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

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

³Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Трансплантация инкапсулированных островков Лангерганса (ОЛ) поджелудочной железы (ПЖ) является одним из подходов для лечения сахарного диабета первого типа. Она позволяет преодолеть отторжение трансплантата без необходимости применения иммуносупрессивных препаратов. В связи с этим тестирование и оценка цитотоксичности капсул как к островкам Лангерганса, так и их биосовместимости с тканям реципиента является необходимым этапом в создании эффективной технологии инкапсуляции. Цель – исследование *in vitro* цитотоксичности и *in vivo* биосовместимости одно-, двух- и трехслойных альгинатных капсул, покрытых РМОТА, при инкапсуляции островков Лангерганса и их трансплантации.

ОЛ выделяли из ПЖ свиней Визенау. Принадлежность выделенных клеток к ОЛ подтверждали с использованием окраски дитизоном. Жизнеспособность ОЛ определяли с использованием окрашивания трипановым синим и МТТ-теста. Синтез капсул производился с использованием микрофлюидного метода, для которого была сконструирована специализированная установка (ИМХ имени Г.А. Разуваева РАН). Для синтеза «однослойных капсул» использовался 2%-ный альгинат, «двухслойные капсулы» покрывались 0,2–3%-ным поли-[2-(метакрилоилокси)этил]триметиламмонийхлоридом (РМОТА), «трехслойные капсулы» дополнительно покрывались 0,2%-ным альгинатом. Подбирали оптимальное количество ОЛ при инкапсуляции. Для оценки реакции реципиента 1000 капсул трансплантировались в ткани сальника и брюшины. Через 7 дней капсулы вымывали физиологическим раствором, оценивали количество вымытых капсул их целостность, степень адгезии клеток и фиброзирование. Оставшиеся в тканях капсулы исследовали с использованием гистологического анализа.

Результаты. Более 85% ОЛ оставались жизнеспособными, как после выделения, так и через 7 дней. Оптимальное количество ОЛ при инкапсуляции составило 15 тыс./мл альгината. Жизнеспособность ОЛ после инкапсуляции в одно-, двух- и трехслойных капсулах составила 90, 40 и 55% соответственно. Через неделю после трансплантации альгинатные капсулы полностью разрушались. «Трехслойные капсулы» продемонстрировали наилучшую вымываемость физраствором: более 150 шт., против 50шт. в случае двухслойных капсул. Целостность трехслойных капсул составила более 80%, а целостность двухслойных капсул составила менее 20%. Большая часть трехслойных капсул после вымывания не была покрыта окружающими тканями в отличие от двухслойных капсул. Гистологический анализ показал незначительную иммунную реакцию и отсутствие фиброза вокруг трехслойных капсул, тогда как вокруг двухслойных капсул было выявлено значительное воспаление и фиброз. В ходе исследования для «трехслойных капсул» была показана меньшая цитотоксичность к ОЛ и лучшая биосовместимость с тканями реципиентов. Инкапсулированные в них ОЛ остаются жизнеспособными на 55 %, а ткани реципиентов не показывают признаков воспаления и фиброза, при этом капсулы остаются целыми после трансплантации.

Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения РФ (государственное задание № АААА-А20-120022590096-6).

СОСТОЯНИЕ СВОБОДНЫХ СИАЛОВЫХ КИСЛОТ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ, А ТАКЖЕ ВЛИЯНИЕ КВЧ-ТЕРАПИИ НА ЭТИ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС С ОТЕКОМ ЛЕГКИХ

Э. Жакет, Ж. А. Сацкая, Д. А. Тарасова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
jacquetedner@gmail.com

Отек легких характеризуется скоплением тканевой жидкости в интерстициальных пространствах легких или в альвеолярных полостях, что препятствует выполнению дыхательной системой своей функции. В настоящее время развитие данной патологии наблюдается у пациентов, инфицированных коронавирусом SARS-CoV-2, ответственным за разрушительную пандемию COVID-19, и может являться основной причиной смерти. Актуальность проблемы терапии и профилактики SARS-CoV-2 связана с неэффективностью иммунной системы, развитием отека легких, отсутствием методов реабилитации и точных диагностических показателей отека легких. В связи с этим особое значение приобретает поиск альтернативных методов лечения отека легких, методов способных скорректировать действие иммунной системы с целью восстановления ее нормальной функции, а также точных диагностических показателей отека легких. Целью данной работы явилась оценка уровня свободных сиаловых кислот в легочной ткани, состояния фагоцитарной активности и функционального резерва нейтрофилов, а также терапевтического действия КВЧ-терапии на эти показатели у крыс с отеком легких.

Отек легких моделировали внутрибрюшинным введением адреналина в дозе 0,1 мг/кг. Для лечения животных использовали биокорректор КВЧ-терапии (СЕМ-ТЕСН, 40-43 ГГц, Россия) в течение 10 дней. Для определения свободных сиаловых кислот использовали стандартный метод реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой. Фагоцитарное состояние нейтрофилов оценивали с помощью спонтанного и индуцированного теста с нитросиним тетразолием (НСТ).

Результаты, полученные в данной работе, показали, что при отеке легких повышается уровень свободных сиаловых кислот, функциональная активность нейтрофилов и снижаются потенциальные резервы нейтрофилов. КВЧ-терапия восстанавливала функциональную активность нейтрофилов и улучшала их фагоцитарный резервный потенциал. КВЧ-терапия снижала и нормализовала уровень свободных сиаловых кислот. Полученные результаты могут предложить использование этих показателей в дополнение к традиционным известным методам диагностики и прогнозам при лечении отека легких, а также в легочной реабилитации у пациентов, перенесших SARS-CoV-2. И КВЧ-терапия может быть возможным терапевтическим вариантом для улучшения состояния пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАГОЦИТОЗА НОРОВИРУСНЫХ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ МОНОЦИТАРНЫМИ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

А.-М. Л. Жарова¹, В. Ю. Талаев², И. Е. Заиченко², М. В. Светлова², О. Н. Бабайкина², Е. В. Воронина²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
uglich_marie@mail.ru

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

Норовирусы человека (сем. Caliciviridae) являются одной из основных причин острых гастроэнтеритов. До сих пор не разработаны эффективные вакцины и не исследованы особенности иммунных реакций против данного патогена. Однако вирусоподобные частицы (VLP) из белка VP1 норовируса могут обладать выраженной иммуногенностью и стать основой вакцин.

Дендритные клетки являются профессиональными антигенпрезентирующими клетками. Фагоцитарная активность этих клеток выявлена в норме и патологии для разнообразных структур, как аутологичного, так и чужеродного происхождения, что показано также и для многих вирусоподобных частиц. Поглощение иммуногенного чужеродного материала вызывает функциональное созревание и морфологические изменения дендритных клеток. Поэтому целью работы является определение эффективности фагоцитоза VLP моноцитарными дендритными клетками для оценки иммуногенности норовирусных частиц.

В работе использован метод получения дендритных клеток *in vitro* путем двухэтапной активации моноцитов и проточная цитофлуориметрия. Норовирусные VLP из белка VP-1 и частицы, состоящие из аналогичного белка VP-1, но без Р-домена, меченные флуоресцентным красителем Су-3, получены коллективом лаборатории иммунохимии ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной под руководством проф. В.В. Новикова. В качестве отрицательного контроля эксперимента, также предоставленного коллективом лаборатории иммунохимии, выступал очищенный и меченный Су-3 лизат бактерий *Escherichia coli* Rosetta 2, трансформированных вектором, не содержащим нуклеотидную последовательность белка VP1.

При культивировании незрелых дендритных клеток с вирусоподобными частицами отмечено приобретение клетками фибробластоподобной морфологии и способности клеток к кластеризации. С помощью проточной цитофлуориметрии установлено, что дендритные клетки способны фагоцитировать VLP вне зависимости от структурной целостности белка VP1. Показано дозозависимое накопление внутри клеток как цельных вирусоподобных частиц, так и лишенных Р-домена структур.

Установлена прямая корреляция между концентрацией частиц (максимальная концентрация VLP - 20 мкг/мл) и показателем геометрической средней флуоресценции (GMFI) дендритных клеток, а также процентом фагоцитировавших клеток. Подтверждена способность дендритных клеток хранить поглощенный антигенный материал, что необходимо для реализации функций данных клеток. Обнаружено, что хранение флуоресцентно меченных поглощенных частиц в течение 24 ч происходит без потери их количества. Полученные результаты свидетельствуют об эффективном фагоцитировании норовирусных вирусоподобных частиц, как необходимом условии их иммуногенности. Оценку иммуногенности норовирусных VLP в дальнейшем планируется продолжить в моделях иммунных реакций *in vitro* и *in vivo*.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ 30-МИНУТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ С ЧАСТОТАМИ РЕЗОНАНСА ШУМАНА НА ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР И СОДЕРЖАНИЕ МДА В ЛИСТЬЯХ ГОРОХА И ПШЕНИЦЫ

А. В. Жирова, И. В. Карпеева, Н. С. Миенская, Ю. В. Сеницына, Е. А. Кальясова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

zhirovaav@mail.ru

Биологические объекты постоянно подвергаются воздействию электромагнитных излучений, как естественных, так и техногенных. К электромагнитным полям естественного происхождения относят магнитное поле Земли, электростатическое поле атмосферы, космические и солнечные излучения. Возмущения геомагнитного поля могут образовывать устойчивые конфигурации в пространстве между поверхностью земли и ионосферой - так называемые стоячие волны. Явление образования таких волн низких и сверхнизких частот называют резонансом Шумана. Из-за волновых процессов в атмосфере наблюдаются частоты примерно 8, 14, 20 Гц, и т.д., которые могут оказывать воздействие на живые организмы и протекающие в них процессы.

Целью данного исследования являлась оценка кратковременного воздействия магнитных полей с частотами, совпадающими с первыми тремя гармониками резонанса Шумана, регистрируемыми на территории Нижегородской области, на липидный спектр и содержание продуктов липопероксидации в листьях гороха (*Pisum sativum L.*), сорт Альбумени пшеницы мягкой яровой (*Triticum aestivum*), сорт Злата.

Проращивание семян и выращивание растений вели в климатической камере Binder до возраста 14 дней. Режим выращивания день/ночь (16/8 ч), температура 23° С. Растения опытной группы подвергали обработке переменным магнитным полем (частоты: 7,8 Гц или 14,3 Гц, или 20,8 Гц, напряженность 18мкТл) в течение 30 минут на фоне геомагнитного поля. Контрольная группа всё время эксперимента находилась в условиях естественного магнитного поля Земли. После окончания экспозиции определяли содержание малонового диальдегида (МДА) по реакции с тиобарбитуровой кислотой и липидный спектр методом тонкослойной хроматографии.

Показано, что во всех экспериментальных и контрольных группах присутствовали сульфолипиды (СЛ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилинозитол (ФИ) и фосфатидилсерин (ФС), дополнительно обнаруживалась фракция лизофосфатидилхолина в растениях гороха, обработанных магнитным полем, частотой 20,8 Гц. Выявлены незначительные (до 6% от контроля) колебания относительного содержания отдельных фракций фосфолипидов. В растениях пшеницы при воздействии магнитного поля частотой 7,8 Гц возрастало относительное содержание ФЭА, а при воздействии частотой 20,8 Гц уменьшалось содержание ФС. В растениях гороха при воздействии магнитного поля частотой 7,8 Гц и 14,3 Гц возрастало содержание СЛ, при воздействии частотой 14,3 Гц также наблюдалось возрастание ФЭА и ФХ, а при воздействии частотой 20,8 Гц увеличивалось содержание ФЭА. Содержание МДА у растений гороха колебалось в диапазоне 190–240 мкмоль МДА/г сухого веса как в контрольных, так и в опытных группах. У растений пшеницы при воздействии магнитного поля частотой 7,8 Гц наблюдалось увеличение содержания МДА на 11,5%, а при воздействии частотой 20,8 Гц – уменьшение на 18,2%.

В целом, магнитные поля с частотами, совпадающими с диапазоном резонанса Шумана, вызывали небольшие изменения липидного спектра и содержание МДА в растениях гороха и пшеницы. Таким образом, мембраны растений могут быть вовлечены в механизмы восприятия низкоинтенсивных магнитных полей растительными клетками.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2019-1892.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В ХОДЕ АНАЛИЗА ПРОСТОЙ СЕНСОМОТОРНОЙ РЕАКЦИИ У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ СТАРШЕГО ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Д. В. Жирова, М. А. Яковлева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
zhirovadariya@yandex.ru

Оценка времени простой сенсомоторной реакции (ПСМР) является важным показателем психофизиологического развития детей. Она используется в первую очередь для оценки динамики нервных процессов: диагностики скорости моторных реакций, для определения силы, уравновешенности и подвижности нервных процессов.

Нами было проведено исследование оценки времени простой сенсомоторной реакции среди мальчиков и девочек возрастной группы 5-7 лет. В работе участвовали две группы детей, воспитанники детских садов Сормовского района города Нижнего Новгорода (№ 199 и № 391): дети с задержкой психического развития (ЗПР) и дети с нормотипичным развитием. Проведение обследования осуществлялось при помощи Биожезла, который включает в себя пульт управления, совмещающий колонки для предъявления звуковых сигналов и кнопки для нажатия при поступлении сигнала. Исследование проводилось с письменного согласия родителей и с соблюдением всех мер безопасности.

Поскольку статистически значимые различия были выявлены между детьми группы нормотипия и детьми с ЗПР в шестилетнем возрасте, более детально рассмотрим полученные данные в этой возрастной группе.

В результате проведенного нами исследования было выявлено, что среднее время простой слухомоторной реакции у дошкольников с задержкой психического развития больше, чем у нормотипичных детей, соответственно $0,86 \pm 0,12$ с и $0,58 \pm 0,06$ с, что совпадает с результатами Н. П. Кривошеиновой (2015), которая использовала в качестве оценки методику простой зрительно-моторной реакции.

Устойчивость реакции, о которой можно судить по рассеиванию времени ответа или вариабельности времени ответа, у нормотипичных детей и детей с ЗПР различается, дети с ЗПР имеют больший временной разброс данного параметра ($1,07 \pm 0,17$ с), у детей с нормотипией вариабельность составляет $0,82 \pm 0,07$ с, что близко к наблюдениям Н. Н. Сентябрева, С. Ю. Максимовой, А. А. Шамардина (2015), полученным в исследовании простой зрительно-моторной реакции.

Следующий параметр, который был нами проанализирован, это – доля числа преждевременных ответов. У нормотипичных детей она составила 3,97%, у детей с ЗПР преждевременных ответов на звуковые стимулы во время исследования не наблюдалось. Доля отсутствия ответов на предъявляемые сигналы у контрольной группы (6,16%) была меньше, чем у исследуемой группы (15,67%) в 2,5 раза. Это свидетельствует об ухудшении функционального состояния мозга детей с ЗПР и возможном развитии состояния утомления.

Установили, что для детей с задержкой психического развития характерно преобладание процессов торможения в нервной системе, нарастание явления истощения в процессе выполнения заданий, низкая степень устойчивости внимания.

ВЛИЯНИЕ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ НА ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Э. А. Жирова, М. П. Рыкова, В. А. Шмаров

Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76А;
elinazirova5@gmail.com

На сегодняшний день перед пилотируемой космонавтикой стоит задача осуществления длительного космического полета (КП) на Луну, а в последующем – на Марс. Установлено, что в условиях орбитального КП человек подвергается ряду неблагоприятных для организма воздействий, среди которых выделяют микрогравитацию (невесомость), радиацию, измененные условия окружающей среды и изоляцию. Длительное пребывание в условиях микрогравитации может приводить к серьезным нарушениям различных систем органов, поэтому исследование последствий воздействия невесомости на иммунитет человека и разработка профилактических мер по предупреждению иммунных нарушений является первостепенной задачей космической иммунологии. В настоящее время иммунологические исследования космонавтов возможно проводить только после их возвращения на Землю по завершении КП, вследствие чего перспективным направлением представляется использование наземных моделей, имитирующих отдельные факторы КП. Антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) моделирует перераспределение жидких сред организма, что также наблюдается при действии микрогравитации, посредством строгого постельного режима человека, голова которого располагается под углом 6° относительно горизонта. Гранулоциты, как представители врожденного иммунитета, первыми среди иммунных клеток реагируют на измененное состояние организма, поэтому исследования воздействия АНОГ на фенотипические особенности гранулоцитов могут предоставить важные сведения для разработки мер по профилактике и оперативному предотвращению развития нарушений иммунитета при воздействии микрогравитации.

В работе использованы данные, полученные от шести испытуемых, по двум временным точкам: фоновые значения получены за 2 дня до начала реализации модели (контроль), а влияние АНОГ определяли по окончании модели, через 21 сутки (опыт). Методом проточной цитофлуориметрии исследовали следующие поверхностные молекулы гранулоцитов периферической крови человека: кластеры дифференцировки (CD) CD25, CD64, CD23, CD14, CD16, CD36, CD11b, CD18 и Toll-подобный рецептор 6 (TLR6).

Небольшое понижение (на 5%) количества гранулоцитов из общего количества клеток крови наблюдали в опыте, по сравнению с контролем. В опыте выявлена тенденция к увеличению процента $CD64^+CD23^+$ популяции гранулоцитов, что свидетельствует о потенциальной активации гранулоцитов и повышении сродства данных клеток к иммуноглобулинам (Ig) G и E соответственно. При этом статистически значимое повышение процента гранулоцитов выявили для $CD64^+$ популяции данных клеток. У большинства испытуемых после 21-суточной АНОГ наблюдалось увеличение процента $CD25^+$ популяции гранулоцитов, что указывает на увеличение сродства гранулоцитов к интерлейкину 2 в опыте. Изучение $TLR6^+$ популяции гранулоцитов выявило разнонаправленные изменения: у одной половины испытуемых после АНОГ наблюдалось понижение процента данной популяции, а у другой – повышение. Это может свидетельствовать о двух разных типах реакции гранулоцитов на бактериальную инфекцию (TLR6 являются рецепторами бактериальных липопротеинов) в условиях АНОГ.

Выявленные фенотипические изменения гранулоцитов периферической крови человека в модели АНОГ показаны впервые. Вклад индивидуальных особенностей организма человека в популяционный состав гранулоцитов при АНОГ требует дальнейшего изучения.

СОСТАВ И СТРУКТУРА ФИТОПЛАНКТОНА ОЗЕРА БОЛЬШОЕ СВЯТОЕ (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Д. А. Журова¹, Е. Л. Воденеева^{1,2}, П. В. Кулизин¹, Е. М. Шарагина¹, Н. А. Старцева¹,
А. Г. Охалкин¹

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

² Нижегородский филиал Всероссийского НИИ рыбного хозяйства и океанографии, 603116,
Нижний Новгород, Московское шоссе, 31
ruthheatherale@gmail.com

Карстовые озера – уникальные природные объекты, которые характеризуются разнообразными морфометрическими параметрами, гидрохимическим составом вод и гидрологическим режимом. Эти озера и их водосборная территория отличаются уникальным составом флоры и фауны, поэтому гидробиологические исследования водоемов карстового происхождения сохраняют свою актуальность.

Озеро Большое Святое является крупнейшим в Нижегородской области озером карстового происхождения. Оно располагается в Навашинском городском округе, имеет охранный статус памятника природы регионального значения. Водоем относится к бассейну р. Теша, правый приток р. Ока, имеет неправильную, вытянутую форму с сильно изрезанной береговой линией, несколькими заливами и островами. Максимальная глубина достигает 20,6 м. Озеро Большое Святое принадлежит к типичному для региона димиктическому типу с выраженной летней стратификацией. По гидрохимическому составу водоем относится к I типу кальциевой группы. В период вегетации воды озера характеризуются высокой прозрачностью, низкой минерализацией, среднее значение составило ~30 мг/л, и низким содержанием биогенных элементов, насыщение кислородом варьирует от 75 до 83%.

Гидробиологические исследования оз. Большое Святое проводились в летний период 2020 г. на 8 станциях и в летний и осенний периоды 2021 г. на 10 станциях. Отбор и последующая подготовка проб фитопланктона проводились согласно стандартной методике.

В летний период 2020 г. значения биомассы фитопланктона варьировали в диапазоне от 0,075 до 0,830 г/м³. Доминантами по биомассе оказались представители отдела Ochrophyta (*Dinobryon divergens*, *Tabellaria fenestrata*, виды рода *Cyclotella*), по численности преобладали представители отдела Cyanophyta (*Aphanothecce clathrata*, *Chroococcus minimus*). В летний период 2021 г. показатели биомассы фитопланктона изменялись в пределах от 0,024 до 0,666 г/м³, в осенний период – от 0,026 до 0,121 г/м³. Доминирующей группой по биомассе в июне–июле 2021 г. оказался отдел Chlorophyta (*Sphaerocystis planctonica*, *Tetraedron caudatum*), в августе наблюдалось слабое «цветение» за счет развития *Staurodesmus incus* (отдел Charophyta), в октябре преобладали представители отделов Ochrophyta (*D. divergens*, виды рода *Mallomonas*) и Cryptophyta (*Komma caudata*), также в восточной части водоема сохранялось доминирование *S. incus*. По численности доминировали цианопрокариоты: *A. clathrata*, *Aphanocapsa incerta*, *C. minimus* в течение всего вегетационного периода 2021 г.

Выделено 17 функциональных групп фитопланктона: F, X₁, X₂, X₃, J, P, N, B, C, D, MP, L₀, H₁, W₂, W₁, W_S, E. Значения индекса Q в течение всего периода 2020–2021 гг. изменялись в пределах от 0,89 до 3,06. Индекс сапробности по биомассе (S_B) варьировал от 1,56 до 2,35, по численности (S_N) – от 1,68 до 2,28, что соответствует III классу β-мезосапробной зоны («умеренно загрязненные»).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-04-01005А.

УЛЬТРАСТРУКТУРА КОЖНО-МУСКУЛЬНОГО МЕШКА БЕСКИШЕЧНЫХ ТУРБЕЛЛЯРИЙ (АСОЕЛА)

Я. И. Заботин

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

Бескишечные турбеллярии (Асоела) представляют собой уникальную группу морских червеобразных беспозвоночных с неустойчивым систематическим положением в животном царстве. В частности, это объясняется простотой их организации и нехваткой ультраструктурных данных.

В ходе данного исследования была описана ультраструктура эпидермиса и кожной мускулатуры у четырех видов Асоела из различных семейств: *Archaphanostoma agile*, *Otocelis rubropunctata* (Isodiametridae), *Symsagittifera japonica* и *Amphiscolops* sp. (Convolutidae). Представители *A. agile* были собраны на литорали различных островов Керетского архипелага (губа Чула, Белое море, Россия), остальные три вида – на литорали острова Мукашима (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.

Покровы всех видов представляют собой однослойный эпидермис, лишенный базальной мембраны и слабо отграниченный от паренхимы. Эпидермис *A. agile* и *O. rubropunctata* относится к непогруженному типу, поскольку его клетки целиком лежат выше слоев мускулатуры. Напротив, два других вида – *S. japonica* и *Amphiscolops* sp. – обладают погруженным эпидермисом. В последнем случае эпидермальные клетки разделяются мускулатурой на две части – широкую и плоскую терминальную пластинку и базальную часть, содержащую ядро.

Наружная поверхность эпидермиса всех исследованных видов покрыта ресничками, корешки которых имеют строение, типичное для Асоела. В эпидермальных клетках всех видов, кроме *A. agile*, непосредственно под корешками ресничек располагается слой очень мелких прозрачных вакуолей.

В покровах исследованных видов встречается четыре типа кожных желез – рабдоидные железы (в двух вариантах – например, у *O. rubropunctata* и *S. japonica*), железы с мелкими электронно-плотными гранулами (у *A. agile* и *S. japonica*), железы с хлопьевидным секретом (у *S. japonica*) и железы с сетчатым секретом (у *O. rubropunctata* и *Amphiscolops* sp.). Кроме того, в эпидермисе *S. japonica* присутствуют органы кожного вооружения – сагиттоциты, специфические для подсемейства Sagittiferinae.

Мускулатура *A. agile*, *O. rubropunctata* и *S. japonica* устроена по сходному плану и образована тремя слоями мышц – наружными кольцевыми, промежуточными диагональными и внутренними продольными. Вид *Amphiscolops* sp. отличается от остальных порядком расположения мышц – диагональная мускулатура залегает глубже кольцевой и продольной. Еще одна необычная особенность *Amphiscolops* sp. заключается в наличии у него косоисчерченной продольной мускулатуры.

Таким образом, у Асоела происходит смена непогруженного эпидермиса (у *A. agile* и *O. rubropunctata*) на погруженный (у *S. japonica* и *Amphiscolops* sp.), усиление гидростатического скелета за счет мелких вакуолей, а также упорядочение мышечных слоев и дифференцировка мускулатуры на гладкую и косоисчерченную. По нашему мнению, обнаруженные новые ультраструктурные особенности кожно-мускульного мешка Асоела свидетельствуют о прогрессивной, а не регрессивной эволюции этой группы, а также всего таксона Bilateria.

ПОЛОВОЙ ДИМОРФИЗМ СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ ЧЕРЕПАХИ НИКОЛЬСКОГО *TESTUDO GRAECA NIKOLSKII*

Е. В. Захарова¹, А. А. Лебединский¹, А. Н. Гнетнева²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
zayceva.k@mail.ru

²Зоологический Институт РАН, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 1

Средиземноморская черепаха Никольского (*Testudo graeca nikolskii*) – реликтовый эндемичный подвид средиземноморской черепахи – обитает в предгорьях вдоль черноморского побережья Краснодарского края и Абхазии в условиях субтропического климата средиземноморского типа. Этот вид находится на грани исчезновения, поэтому занесен в Красные книги – международную, российскую, региональную (Гурашнина, 2012).

Целью работы была оценка морфометрических различий самок и самцов средиземноморской черепахи Никольского. В июне 2021 г. проводились морфометрические исследования средиземноморской черепахи Никольского в городе Геленджик на базе ООО «Сафари-парк» и в природных условиях на прилегающих территориях. В природных условиях поиск черепах осуществлялся в утренние и вечерние часы на пике их активности. В данной работе было изучено 80 половозрелых особей, из которых 72 содержатся в «Сафари-парке» и 8 были найдены в естественных условиях. Все обнаруженные черепахи были помечены методом нанесения запилов на роговом слое карапакса. Измерения проводились с помощью штангенциркуля по имеющимся методикам (Perala, 2001; Türkozan, 2010).

Выявлено, что панцирь средиземноморской черепахи Никольского у самок больше, чем у самцов, что наблюдается на большинстве промеров. Но некоторые отдельные щитки, напротив, у самок меньше. Длина карапакса по средней линии (LC) у самцов на 11,3% короче, чем у самок. Ширина карапакса на уровне 3 и 8 маргинальных щитков (SC1 и SC3) – меньше на 5%, а на уровне 6 маргинальных щитков (SC2) – на 8,3%. Кaudальный щиток в своей минимальной длине (SCa1) у самок больше почти на 16%, но в максимальной (SCa2) – меньше на 6,4%. Подобная ситуация наблюдается и с измерениями пластрона. Длина пластрона по средней линии (LP) на 14,3% больше у самок. Примерно такое же отличие наблюдается в длинах горлового щитка (LP1) – на 14,4%. Длина анального щитка по средней линии (LPa) имеет более существенную разницу – у самок она больше на 27,6%. Ширина гулярных щитков по гуляро-гумеральной борозде (SP1) почти не отличается – у самцов чуть меньше (на 1%). Однако ширина гумеральных щитков по гумеро-пекторальной борозде (SP2) различается уже на 6,3%, по пекторально-абдоминальной борозде (SP3) – на 8,4%. Ширина абдоминальных щитков по абдоминально-феморальной борозде (SP4) отличается на 9,6%. Максимальная ширина пластрона (SP med) у самцов меньше на 6%. Иная ситуация с шириной феморальных (SP5) и анальных (SP6) щитков. У самок они меньше на 2,8% и 21,7% соответственно. Так, анальные щитки у самок значительно длиннее и уже, чем у самцов. Кроме того отмечено, что у самок более короткие хвосты. Длина хвоста самок меньше на 28%.

По результатам наших исследований, половой диморфизм средиземноморской черепахи Никольского наиболее ярко проявляется в следующих признаках: длина и ширина карапакса и пластрона, форма каудального и анального щитков, а также длина хвоста.

ВЛИЯНИЕ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ВЕГЕТАТИВНЫЙ МИЦЕЛИЙ ГРИБОВ

Е. О. Зеленова, В. Ф. Смирнов, О. Н. Смирнова, А. Ю. Шишкин, Н. А. Аникина,
А.В. Корягин

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
biodeg@mail.ru

В последние годы исследованию антимикробной активности мелкодисперсные микро- и наноразмерные частицы оксидов тяжелых металлов (ZnO, TiO₂, CuO) посвящено немало работ. Интерес к данным соединениям связан в первую очередь их фотокаталитической активностью, т.е. при воздействии на них света в различных областях спектра имеет место увеличение их антимикробного эффекта. Токсическое или биоцидное действие фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов зависит от целого ряда факторов: интенсивности, длительности и спектрального состава света, размера частиц и их концентрации, от самого биологического объекта и т.д. Многочисленные исследования показали, что наиболее эффективно фотокаталитическая активность проявляется для микро- и наноразмерных частиц оксидов металлов.

В связи с этим целью данной работы являлось исследование влияния нового соединения RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ на вегетативный мицелий тест-культур грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum*.

В исследовании использовался синтезированный в НИИ Химии ННГУ RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ в виде субмикронных частиц диаметром 736 нм. В качестве тест-культур микроорганизмов использовали штаммы мицелиальных грибов, полученные из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ИБФМ РАН, Пущино): *A. niger* van Tieghen ВКМФ-1119, *P. chrysogenum* Thom ВКМ F-245, которые являются активными биодеструкторами различных промышленных материалов. В качестве источника света использовали прожектор JAZZWAY PFL-C3 светодиодные пылевлагозащищенные мощностью 50 Вт (плотность потока излучения 524 Вт/м²).

В опытных вариантах к навеске мицелия грибов (50-100 мг) в бюксах вносили исследуемое соединение так, чтобы конечная концентрация составляла 2 мг/мл. В качестве контроля служили варианты вегетативного мицелия в условиях темноты и действия света без присутствия исследуемого соединения. Все варианты помещали на орбитальные шейкеры при 150 об/мин на 120 и 240 мин в условиях темноты и воздействия света. Затем мицелий (во всех вариантах) из бюксов перемещали в колбы Эрленмейра на 100 мл в жидкую среду Чапека–Докса на доращивание еще на 7 сут в тех же условиях. По истечении срока культивирования ингибирующее действие исследуемого вещества определяли по приросту биомассы мицелия.

Было показано, что соединение RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ оказывало ингибирующий эффект на рост вегетативного мицелия грибов *A. niger* и *P. chrysogenum* в условиях темноты. Действие света же усиливало фунгицидность RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆, что может указывать на его фотокаталитическую активность. Установлено, что с увеличением длительности экспозиции антимикробный эффект исследуемого соединения усиливался. Ингибирующий эффект в отношении роста вегетативного мицелия более выраженный был в отношении гриба *P. chrysogenum* – снижение прироста биомассы составило более 90% по сравнению с контролем уже при экспозиции под действием света в течение 120 мин, в то время как снижение прироста биомассы гриба *A. niger* при экспозиции под действием света даже после 240 мин составило менее 40 %.

Таким образом, проведенные исследования показали наличие фунгицидной активности соединения RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆, увеличивающейся под действием света. Показано, что на эффективность биоцидного действия данного соединения влияло как время светового воздействия, так и биологический объект.

РОСТ АКСОНОВ В АСИММЕТРИЧНЫХ МИКРОКАНАЛАХ МИКРОФЛЮИДНЫХ ЧИПОВ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НАПРАВЛЕННЫХ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СВЯЗЕЙ

М. С. Землянсков¹, А. А. Гладков^{1,2}, Я. И. Пигарева¹, В. Н. Колпаков¹, А. С. Букатин³, И. В. Мухина^{1,2}, В. Б. Казанцев¹, А. С. Пимашкин¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
pimashkin@neuro.nnov.ru

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

³Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж.И. Алферова РАН, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8

Для восстановления поврежденной нервной ткани в будущем может быть применена имплантация биосовместимых и биоразлагаемых каркасов с нейрональными клетками внутри. Для обеспечения правильного восстановления утраченных в результате травмы функций нейронной сети необходимо учитывать особенности гетерогенного строения мозга. При моделировании процессов восстановления можно применить микрофлюидные чипы и технику двухэтапной посадки клеток.

Целью данной работы была оценка эффективности асимметричных микроканалов для однонаправленного роста нейрональных отростков. Использовался микрофлюидный чип с тремя камерами: Источник, Имплант и Приемник, которые соединялись шестнадцатью микроканалами. Микроканалы между камерами Источник и Имплант длиной 430 мкм состояли из двух треугольных секций, микроканалы между камерами Имплант и Приемник длиной 600 мкм состояли из одной треугольной и двух широких секции с ловушками для нейритов камеры Приемник. Во время первого этапа посадки клетки загружались только в одну камеру: Источник, Имплант или Приемник. С помощью светового микроскопа Axio Observer.A1, Carl Zeiss (Германия) в течение восьми дней ежедневно получали фотографии микроканалов, в которых росли отростки. На втором этапе посадки клетки загружали в камеру Имплант в тех чипах, где на первом этапе клетки были в камерах Источник или Приемник. Далее с помощью программы ImageJ по микрофотографиям измерили расстояния, на которые прорастали отростки в микроканалах, и посчитали скорости роста отростков. Культивировали клетки гиппокампа мыши (E18) с плотностью 8000 клеток/мм².

В результате было показано, что средняя скорость роста отростков в микроканалах на третий день из камеры Источник в камеру Имплант была равна $84,5 \pm 46,3$ мкм/сутки; из камеры Имплант в камеру Источник $71,4 \pm 27,5$ мкм/сутки. Различий скоростей для этих микроканалов найдено не было ($n=48$, тест Манна-Уитни, $p>0,05$). Средняя скорость роста отростков в микроканалах на третий день из камеры Имплант в камеру Приемник была больше, чем из камеры Приемник в камеру Имплант ($n=48$, тест Манна-Уитни, $p<0,05$), $113,4 \pm 40,2$ мкм/сутки и $69,6 \pm 24,5$ мкм/сутки соответственно.

Таким образом, была показана высокая эффективность микроканалов для формирования однонаправленного роста нейрональных отростков между камерами Имплант и Приемник. Предполагается, что при моделировании процессов восстановления в данном чипе направленность роста аксонов между камерами Источник и Имплант будет обеспечиваться разницей во времени начала культивирования нейрональных клеток, а не формой микроканалов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда в рамках научного проекта №21-75-10154.

ПАРАМЕТРЫ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ФОТОХИМИЧЕСКОГО ИНДЕКСА ОТРАЖЕНИЯ И ОТРАЖЕНИЯ НА ДЛИНЕ ВОЛНЫ 531 НМ ПОКАЗЫВАЮТ РАЗВИТИЕ СТРЕССОВЫХ ИЗМЕНЕНИЙ РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЗАСУХИ И ЗАСОЛЕНИЯ

Ю. А. Золин, А. Ю. Киор, Е. М. Сухова, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
uhebernayap.zolin@gmail.com

Модификация оптических свойств растений, включая изменение коэффициентов отражения на различных длинах волн, является одним из важных ответов на действие широкого спектра стрессоров. Такие изменения лежат в основе дистанционного мониторинга состояния растений с использованием методов мульти- и гиперспектрального имиджинга. При этом значительный интерес вызывают изменения отраженного света на длине волны 531 нм, которые связаны с быстрыми стрессовыми ответами фотосинтетического аппарата; прежде всего, с закислением люмена хлоропластов, которое индуцирует их сжатие и переходы в цикле ксантофиллов. Фотохимический индекс отражения (photochemical reflectance index, PRI), опирающийся на интенсивности отраженного света на 531 и 570 нм длинах волн, активно исследуется в качестве потенциального инструмента выявления стрессовых изменений фотосинтеза. Целью нашей работы стал анализ возможности использования параметров пространственного распределения PRI и интенсивности отраженного света на длине волны 531 нм для выявления влияния на растения почвенной засухи и засоления.

В ходе анализа были исследованы растения пшеницы и гороха, являющиеся значимыми сельскохозяйственными культурами. Измерения PRI и интенсивности отраженного света на длине волны 531 нм осуществляли с использованием разработанной авторами системы измерения пространственного распределения PRI. Фотосинтетические измерения осуществляли с использованием ручного РАМ-флуориметра PAR-FluorPen FP 110 (Photon Systems Instruments, Чехия). Почвенную засуху индуцировали прекращением полива; солевой стресс – поливом растений раствором хлорида натрия (100, 200 и 400 мМ).

Исследование показало, что почвенная засуха вызывала негативный сдвиг величины PRI у растений пшеницы и гороха, которое усиливалось по мере увеличения потери воды растениями. При этом наблюдалось возрастание пространственной неоднородности распределения фотохимического индекса отражения, которое проявлялось в возрастании стандартного отклонения PRI. Исследование влияния засоления показало, что 100 и 200 мМ концентрации NaCl не оказывали существенного влияния на показатели фотосинтеза и PRI у растений гороха. В то же время воздействие 400 мМ хлорида натрия приводило к подавлению фотосинтетических процессов и увеличению пространственного распределения PRI. Анализ пространственного распределения интенсивности отраженного света на длине волны 531 нм, которое оценивали с помощью коэффициента вариации такой интенсивности, показал схожие результаты: при усилении стрессового воздействия (почвенная засуха и засоление) наблюдалось возрастание коэффициента вариации интенсивности отраженного света.

Таким образом, полученные результаты показывают, что параметры пространственного распределения PRI и интенсивности отраженного света на длине волны 531 нм могут быть использованы для выявления стрессовых изменений у растений при действии засухи и засоления; т.е. могут быть использованы как их инструмент дистанционного мониторинга.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-76-20032).

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ОЗЕР ЩУЧЬЕ И ШАП МЕДВЕДЕВСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ МАРИЙ ЭЛ ПО ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

О. Н. Зыкова, Е. А. Скочилова

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

В летний период особой популярностью пользуется отдых на природе. Это не является исключением и для Республики Марий Эл. Массовый выезд на природу с целью рекреации влечет за собой повышение антропогенной нагрузки на озера. Во избежание деградации озер нужно проводить постоянный мониторинг их состояния.

Озера Щучье и Шап находятся в Медведевском районе Республики Марий Эл, имеют различное происхождение. Озеро Щучье по происхождению междунное. Форма озера треугольная, на западной стороне встречаются небольшие мыски с торфяными кочками. Щучье является бессточным озером. Дно ровное, покрыто густым слоем мягкого ила. На середине озера чистое, но окружено широким поясом подводной растительности: кувшинок, камыша, тростника. С западной стороны располагается база отдыха «Тролейбусник». Лесное озеро Шап по происхождению карстовое. Берега озера в южной, западной и северных частях пологие, постепенно поднимаются и переходят в поросшую смешанным лесом гриву. Высота песчаной гривы колеблется от 5 до 8 метров. Шап имеет статус санаторно-курортной зоны, на побережье которой расположены лечебно-оздоровительный центр «Южный», детский оздоровительный лагерь им. Л. Голикова, пансионаты. Целью данной работы было изучение химических показателей озер Щучье и Шап.

Отбор проб воды был произведен в летний период 2019 г. в соответствии со всеми требованиями ГОСТ 31942-2012 «Вода. Отбор проб для микробиологического анализа». Исследования проводили в лаборатории ГУП ТЦ «Маргеомониторинг». Для изучения качества воды в озерах определяли водородный показатель – потенциометрическим методом. Содержание в воде взвешенных веществ определяли гравиметрическим методом, хлоридов – аргентометрическим, азота аммонийного, нитратов, нитритов, фосфатов, железа общего – фотометрическим методом. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программы Statistica 6.0. Достоверность различий оценивали по распределению Стьюдента на доверительном уровне 95%.

В ходе исследований получены следующие результаты. Водородный показатель воды озера Щучье составляет 5,85 рН, что ниже гигиенического норматива, на 0,65 рН. Данный показатель воды озера Шап находится в пределах гигиенического норматива. По показателям взвешенные вещества, азот нитритный, нитратный, фосфаты, хлориды и сульфаты превышений ПДК не обнаружено. Было обнаружено превышение ПДК по содержанию азота аммонийного в пробах воды с озера Щучье и железа общего в пробах воды с обоих озер. Содержания азота аммонийного в пробах с озера Щучье составляет 6,142 мг/дм³ при ПДК 0,5 мг/дм³. По железу общему в пробах с озера Щучье 2,98 мг/дм³, Шап 1,59 мг/дм³, при ПДК 0,1 мг/дм³.

Проанализировав полученные данные, можно заключить, что показатель азот аммонийный в пробах из озера Щучье превышает ПДК в 12 раз. Содержание железа общего в пробах с озера Щучье превышает ПДК в 29 раз, Шап – в 15 раз. Возможно это можно связать с естественными причинами, так как пробы воды были отобраны в летний период, когда процессы биологического разложения наиболее интенсивны. Также стоит отметить, что данные озера имеют связь с болотами, находящимися рядом с ними. Например, озеро Шап связано с болотом Подшапник, которое располагается в восточной части озера, оно же служит зоной разгрузки талых вод. Если же говорить об озере Щучье, то оно получает питание от болотных ручьев и родничков.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА УРОВЕНЬ pH
ЦИТОПЛАЗМЫ КЛЕТОК КОРНЯ ТАБАКА
С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМОГО СЕНСОРА Pt-GFP**

Г. А. Игошкин, А. А. Брилкина, М. Н. Агеева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mr.igoshkin@inbox.ru

Существует множество способов оценки водородного показателя, все они отличаются по удобству, эффективности и качеству измерения. В последнее время наибольшую популярность приобрели pH-чувствительные белки-сенсоры на основе GFP, гены которых возможно вставлять в геномы живых организмов. pH-чувствительный белок Pt-GFP, выделенный из морского пера *Ptilosarcus gurneyi*, является ратиометрическим флуоресцентным сенсором благодаря наличию двух pH-чувствительных максимумов на спектре возбуждения, что дает дополнительное преимущество, позволяя количественно измерять pH. Благодаря ратиометрическому подходу можно анализировать изменение pH в сложной среде живых клеток определенных тканей и частей растений, в цитоплазме и в отдельных клеточных органеллах. Для этого используют отношение F488/F405 (флуоресценции анионной к флуоресценции нейтральной формы Pt-GFP), позволяющее измерять сигнал флуоресценции в зависимости от величины pH. Целью работы было получение зависимости флуоресценции Pt-GFP от pH цитоплазмы клеток различных зон корня табака и оценка влияния хронического засоления на pH цитоплазмы.

Работа проводилась на трансгенных растениях табака *Nicotiana tabacum* линии 177/3С, экспрессирующей ген сенсорного белка Pt-GFP. Для культивирования табака *in vitro* использовали среду MS (Мурасиге-Скуга). Также для создания условий хронического засоления семена табака высаживали на питательные среды MS с добавлением NaCl в различных концентрациях: 50, 75, 100, 125 мМ. Растения на данных питательных средах культивировали при освещении 3000 Люкс, фотопериоде 16/8 свет/темнота и 25°C. Буферные растворы с pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 готовили на основе искусственной прудовой воды (ИПВ). pH буферных растворов доводили до необходимых значений с помощью соляной кислоты. Также в каждый буферный раствор добавляли протенофор КЦХФГ до конечной концентрации 250 мкМ. Для выравнивания pH в клетках растений с соответствующим буферным раствором, проростки табака полностью помещали в пробирки с буферными растворами и оставляли на ночь при 4°C. На следующий день получали флуоресцентные изображения тканей табака с pH-сенсором Pt-GFP на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM710 (Carl Zeiss). Рассматривали следующие зоны корня табака: колумелла, латеральные клетки чехлика, зоны растяжения, а также следующие части: середина, кончик и основания клеток ризодермы и коры. Изображения обрабатывались в программах ZEN 2011 SP7 FP3 (black) 64 bit и ImageJ Fiji, где получали значения флуоресценции белка Pt-GFP при возбуждении лазерами 405 и 488 нм, а затем отношение этих значений F488/F405. Далее с помощью программы GraphPad Prism 6 получали зависимости флуоресценции Pt-GFP от pH цитоплазмы, используя уравнение сигмоиды Больцмана.

Полученные зависимости флуоресценции Pt-GFP от pH цитоплазмы клеток различных зон корня табака будут использованы для анализа влияния хронического засоления на pH клеток табака.

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ВИЗУАЛИЗАЦИИ НАТИВНОЙ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ИММУННЫХ КЛЕТОК ДРЕНИРУЮЩИХ ЛИМФОУЗЛОВ НА МОДЕЛИ МЫШИНОЙ МЕЛАНОМЫ В16F0 МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ С ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ FLIM

А. В. Изосимова^{1,2}, А. М. Можеров¹, Е. В. Загайнова², Д. В. Южакова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; annizosimova@mail.ru

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Одной из главных проблем иммунотерапии опухолей является отсутствие надежных маркеров эффективности лечения на ранних этапах. Метаболический статус лимфоцитов во многом отражает их реактивность против опухоли и может служить потенциальным индикатором раннего ответа на лечение. Перспективным методом оценки клеточного метаболизма является визуализация автофлуоресцирующих коферментов методом флуоресцентной времяразрешенной микроскопии FLIM, однако работы по FLIM-визуализации лимфоцитов пока единичны и выполнены в модельных *in vitro* экспериментах.

Цель работы – разработка способа визуализации нативной автофлуоресценции иммунных клеток дренирующих лимфоузлов на модели мышинной меланомы В16F0 методом FLIM.

Исследования проводили на мышах линии С57Bl/6 FoxP3-EGFP с подкожно привитой меланомой В16F0. Паховый лимфоузел вблизи опухоли выступал в роли дренирующего. Исследовали автофлуоресцентный профиль иммунных клеток лимфоузлов здоровых мышей, мышей с опухолью без лечения и мышей с опухолью при иммунотерапии блокирующими анти-CTLA-4 антителами (Bio X Cell, США) (250 мкг на мышь, внутрибрюшинная инъекция на 7, 8, 11 и 12-й дни роста опухоли). Визуализировали свежие срезы лимфоузлов непосредственно после забора на конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) с FLIM приставкой TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Германия) в канале кофермента никотинамидадениндинуклеотид (фосфата) НАД(Ф)Н (возбуждение 375 нм, регистрация в диапазоне 435–485 нм).

Разработан оригинальный способ визуализации нативной автофлуоресценции иммунных клеток лимфоузлов. Паховый лимфоузел выделяли под биноклем Leica M60 с 4-кратным увеличением, с помощью микрохирургических ножниц делали срезы толщиной около 1 мм и помещали срезом вниз на чашку FluoroDish (WPI) со стеклянным дном. Срезы были необходимы, чтобы оболочка лимфоузла не перекрывала иммунных клеток. Сверху образцы фиксировали салфеткой, смоченной физиологическим раствором, чтобы не допустить пересыхания и смещения образца во время съемки.

Методом FLIM в канале НАД(Ф)Н продемонстрировано, что у здоровых мышей наблюдается наименьшее значение отношения свободной компоненты к связанной $a1/a2$ ($2,36 \pm 0,08$). У мышей с опухолью наблюдается увеличение отношения $a1/a2$ с ростом опухоли: от $2,6 \pm 0,1$ для мышей с объемом опухоли до 200 мм^3 до $3,4 \pm 0,2$ для мышей с объемом опухоли $250\text{--}400 \text{ мм}^3$ ($p=0,0003$ против здоровых мышей). Данный эффект может быть связан со сдвигом в сторону гликолитического метаболизма, что может быть ассоциировано с активацией и пролиферацией лимфоцитов в ответ на опухоль. Увеличение размеров лимфоузлов подтверждает данную гипотезу.

Предварительные результаты по анти-CTLA-4 терапии показали, что у части мышей, ответивших на терапию (с торможением роста опухоли) $a1/a2$ выше, чем у нелеченых мышей с аналогичным объемом опухоли ($3,1 \pm 0,17$ против $2,7 \pm 0,03$).

Впервые показана возможность визуализации автофлуоресценции иммунных клеток в лимфоузлах в их нативном состоянии. Продемонстрирована потенциальная возможность использования метаболического FLIM-имиджинга для оценки реактивности иммунных клеток против опухоли и эффективности иммунотерапии.

Работа поддержана грантом РФФ № 21-74-00101.

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

А. В. Иконников¹, Е. А. Галова², А. С. Благодирова², И. В. Мухина^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vikon9823@gmail.com

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

Современные исследования раскрывают все больше информации о том, как микроорганизмы влияют на мозг благодаря их способности производить и модифицировать многие метаболические, иммунологические и нейробиохимические факторы в кишечнике, которые в конечном итоге влияют на нервную систему. Активно обсуждаются вопросы о сложном и изменчивом микробном метаболизме у пациентов с РАС (расстройства аутистического спектра), выявлены различные виды РАС-ассоциированных кишечных метаболитов (короткоцепочечные жирных кислоты, п-крезол, индол и др.).

Целью данной работы являлся анализ таксономического и функционального профиля кишечной микробиоты у детей 3–7 лет с расстройствами аутистического спектра. В качестве материала для метагеномного исследования были отобраны образцы стула пациентов с диагностированными расстройствами аутистического спектра и здоровых пациентов, являющихся контрольной группой. Было проведено высокопроизводительное полногеномное секвенирование ДНК-последовательностей образцов кала экспериментальных и контрольных групп. Обработка данных секвенирования включала в себя контроль качества, фильтрацию. Таксономический состав метагеномных образцов был определен в результате картирования нуклеотидных ридов на референсный каталог из маркерных генов микроорганизмов, встречающихся в кишечнике человека, с использованием программного пакета MetaPhlan3. Функциональное профилирование проводилось с помощью HUMAnN3 с использованием базы данных нуклеотидов ChocoPhlan v30, базы данных белков uniref90 и базы данных MetaPhlan3. Анализ размера линейного дискриминантного эффекта (LEfSe) применялся для поиска таксонов и ключевых ферментов, которые вносят наибольший вклад в различия между группой детей с РАС и контрольной группой.

Метагеномный анализ позволил изучить таксономический профиль кишечной микробиоты и определить относительную численность бактерий, содержащихся в исследуемых образцах и их функциональный потенциал. В результате исследования было установлено, что наиболее высокое процентное содержание показали типы *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*. Сравнительный анализ значений индекса альфа-разнообразия Шеннона на уровне вида показал, что в группе детей с РАС по сравнению с контрольной группой наблюдалось значительное снижение бактериального богатства ($P < 0.05$). Анализ LEfSe показал, что контрольную группу характеризовали роды *Fusicatenibacter*, *Coprococcus*, *Gemmiger* ($p < 0.05$), а группу детей с РАС – роды *Eisenbergiella*, *Erysipelatoclostridium*, *Escherichia* ($p < 0.05$). Значимые отличия были получены для представленностей ферментов, связанных с бутиратом и лактатом и принадлежащим видам *B. eggerthii*, *C. comes* CAG 19, *F. saccharivorans* ($p < 0.05$).

ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ MTHFR, COL1A1, APOB НА ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СТЕНКИ СОСУДОВ

В. М. Ильина¹, Е. В. Кондакова¹, Д. О. Корсакова¹, Л. М. Ермакова¹, К. В. Кучин², М. В. Ведунова¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

KarlDuran11@yandex.ru

²Городская клиническая больница № 38, 603950, Нижний Новгород, ул. Чернышевского, 22

Сердечно–сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности населения в мире. Своевременное определение факторов риска развития патологий сердца и сосудов может увеличить выживаемость пациентов. В последнее время всё больше внимания уделяется определению однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), которые могут повышать риск развития сердечно–сосудистых патологий. Целью данной работы явилось исследование влияния SNP исследуемых генов на состояние сердечно–сосудистой системы.

Материалом для исследования явилась цельная венозная кровь, взятая у добровольцев с их информированного согласия. Обследуемая группа состояла из 130 человек в возрасте от 21 до 83 лет, проживающих на территории Нижегородской области. Геномную ДНК из клеток цельной крови выделяли с помощью набора реагентов «ДНК–Экстран–1» (Синтол, Россия). Для всех исследуемых групп были определены SNP 3 генов, ассоциированных с предрасположенностью к сердечно–сосудистым заболеваниям, а именно гена, кодирующего белок аполиipoprotein B–ApoB, метилентетрагидрофолатредуктазы–MTHFR, коллагена 1 типа–Col1A1. Выявление SNP проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР–РВ) с использованием коммерческих наборов (Синтол, Россия). Детекция SNP проводилась с помощью амплификатора CFX96 Touch (Bio–Rad, США). Для определения зависимости между наличием SNP в генах и показателями сфигмографии использовали результаты, полученные путем оценки функционального состояния стенок сосудов методом многоканальной объемной сфигмографии на аппарате BOSO ABI–SYSTEM 100 (BOSCH + SOHN GmbH u. Co. KG, Германия).

Первоначально предполагалось, что замены в исследуемых генах пагубно влияют на состояние сердечно–сосудистой системы. Однако при анализе SNP COL1A1 (rs1107946) найдено достоверно значимое повышение показателей каротидно–фemorальной скорости пульсовой волны (кфСПВ) в группе лиц с генотипом CC по сравнению с генотипом CA, при анализе SNP гена MTHFR (rs1801131) были обнаружены аналогичные результаты – показатели кфСПВ выше в группе добровольцев с нормальным генотипом, чем в группе с наличием минорного аллеля. Примечательно, что люди с нормальным генотипом AA гена MTHFR имеют гипертонию чаще, чем люди с генотипом AC. При анализе зависимости пульса от SNP в гене ApoB (rs5742904) было обнаружено, что люди с генотипом GG (дикий тип) имеют более высокий пульс, чем люди с заменой в данном гене. Данные результаты представляют огромный интерес для дальнейших исследований, так как в литературе на сегодняшний день нет подобных результатов.

Таким образом, было обнаружено, что генотипы дикого типа генов COL1A1, MTHFR, ApoB ассоциированы с факторами риска развития осложнений в сердечно–сосудистой системе.

Работа выполнена в рамках проекта госзадания Министерства науки и высшего образования РФ № 0729-2020-0061.

ИЗУЧЕНИЕ РЯДА ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

А. О. Игнатова¹, Н. А. Александрова², М. И. Заславская², Н. И. Игнатова²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
n.amsterdam999@gmail.com

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

Микробиота человека является основой его микроэкологии и оказывает непосредственное влияние на жизнедеятельность и состояние макроорганизма. Наиболее частыми представителями условно-патогенных грибов, входящих в состав микробиоты, являются грибы рода *Candida*. Известно, что существование микромицетов в гифальной и биопленочной формах чаще сопровождается усилением патогенности и антибиотикорезистентности. В связи с этим целью работы являлась оценка зависимости между биопленочной и гифальной активностями грибов рода *Candida*.

Объектом исследования стали микроорганизмы *Candida albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*, *C. krusei*, взятые из коллекции кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Приволжского исследовательского медицинского университета» Минздрава РФ.

Для экспериментов использовали стандартизированную клеточную суспензию кандид, полученную методом серийных разведений и имеющую показатель мутности 0,5 по стандарту McFarland (DensiLaMeter II, ERBA Lachema, Чехия).

Биопленочная активность грибов рода *Candida* изучалась путем посева суспензии гриба в лунки 12-луночного планшета в 2 мл среды DMEM. Планшеты культивировали 48 ч. при температуре 37°C. Зрелые биопленки отмывали раствором Хенкса, окрашивали 1%-ным раствором кристаллического фиолетового. Затем краситель элюировали спиртом и измеряли оптическую плотность элюата на фотоэлектроколориметре (КФК-2-УХЛ 4.2, Россия) при 540 нм. Об интенсивности биопленкообразования судили по степени окраски элюата.

Для изучения гифальной активности кандид использовали метод выращивания мицелиальной формы грибов рода *Candida*. Для этого стандартизированную клеточную суспензию кандид по 50 мкл вносили в пробирки типа эппендорф с добавлением среды DMEM. Посевы культивировали 48 ч. при температуре 37°C, после чего замеряли объем образовавшегося мицелия микромицетов.

Биопленочная активность *C. albicans* является более выраженной. Она в 1,5 раза больше биопленочной активности *C. auris*, в 16,6 раз больше биопленочной активности *C. glabrata* и *C. krusei*. Показано, что штаммы *C. auris* и *C. glabrata* не образуют гиф в питательной среде DMEM, в отличие от штаммов *C. albicans* и *C. krusei*. При этом гифальная активность *C. albicans* больше гифальной активности *C. krusei* в 13,5 раз. Сравнение гифальной и биопленочной активности кандид показало сильную связь между исследуемыми признаками. Следовательно, чем выше гифальная активность штамма, тем выше будет его биопленочная активность. Данный факт объясняется тем, что гифы кандид более гидрофобны и быстрее прикрепляются к пластиковой поверхности планшета, тем самым значительно ускоряя процесс формирования биопленки.

Однако данная зависимость не характерна для *C. auris*, так как при отсутствии гиф, биопленки данных микромицетов выражены лучше, чем у *C. glabrata*, которые также не имеют способности к гифообразованию. Такая биопленочная активность штаммов *C. auris* по данным литературы может быть связана с другими факторами адгезии. Показано, что *C. albicans* обладает более выраженной биопленочной и гифальной активностью, по сравнению с другими видами грибов рода *Candida*. Установлена сильная положительная корреляция между гифальной и биопленочной активностью грибов рода *Candida*, кроме *C. auris*.

ПОИСК УНИВЕРСАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ ФОРМИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ГЕНОТОКСИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

З. Б. Исмаилов¹, Е. С. Белых¹, А. М. Удоратина², А. А. Черных³, С. Н. Керимова⁴,
А. В. Рыбак¹, И. О. Велегжанинов¹

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167000, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28; tomclancy200@yandex.ru

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Институт физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Первомайская, 50

⁴Коми Республиканский Онкологический Диспансер, 167904, Сыктывкар,
пгт. Краснозатонский, Ньючимское шоссе, 46

Формирование резистентности опухолевых клеток к ионизирующему излучению и химиотерапевтическим агентам в процессе терапии является одной из важнейших проблем, снижающих эффективность лечения онкологических заболеваний. Известно, что существует значительное разнообразие «стратегий» повышения клеточной стрессоустойчивости, которые могут различаться даже на уровне разных субпопуляций клеток внутри одной опухоли. Знание генетических и эпигенетических механизмов формирования устойчивости и ключевых генов, задействованных в них, позволит не только увеличить эффективность терапии онкологических заболеваний, но и развивать подходы к повышению устойчивости нормальных клеток, а в перспективе – и целых организмов.

Наиболее очевидным способом выявить возможные механизмы формирования устойчивости является сравнение профиля транскрипции генов устойчивых к генотоксическому воздействию клеток с профилем экспрессии генов в родительской линии клеток, чувствительных к тому же агенту. С момента появления технологий, позволяющих проанализировать транскриптом клеток, было выполнено множество таких исследований. Однако обзорных работ, анализирующих частоту встречаемости дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) в клетках различных видов опухолей на сегодня нет. В связи с этим, нами выполнен систематический обзор 101 исследования (123 списков ДЭГ) сравнивающего транскриптомы устойчивых и чувствительных к генотоксическому стрессу опухолевых клеток с целью найти наиболее универсальные ДЭГ и их паттерны. Списки ДЭГ проанализированы как в единой совокупности, так и с учётом типа генотоксического воздействия и гистологической классификации опухолей.

Анализ опубликованных списков ДЭГ свидетельствует о том, что между ними очень мало общего. Однако, выявлен ряд генов, доминирующих при группировке данных по различным признакам. С помощью анализа генной онтологии выявлены важнейшие для устойчивости функциональные группы генов. Обсуждены возможные механизмы участия генов, относящихся к таким группам, в формировании устойчивости. Роль многих из них неочевидна и требует сфокусированного изучения. Выполнено сравнение результатов представленного анализа с результатами метааналитических исследований сфокусированных на отдельных типах опухолей, а также с результатами, полученными на основе баз данных клинических образцов. Отдельно рассмотрена роль генов антиоксидантной защиты в формировании устойчивости к ионизирующему излучению.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-01042.

ВЛИЯНИЕ АУКСИНОВ И ЦИТОКИНИНОВ НА СИНТЕЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СУСПЕНЗИОННЫМИ КЛЕТКАМИ ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ

А. А. Исмаилова, Д. А. Рыбин, Е. В. Березина, А. А. Брилкина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
alinaismailova2000@bk.ru

Голубика щитковая *Vaccinium corymbosum* относится к семейству вересковые (Ericaceae) и, как и другие представители семейства, характеризуется повышенной способностью к синтезу фенольных соединений, в первую очередь флавоноидов и проантоцианидинов. Наиболее эффективными объектами для промышленного получения ценных фенольных соединений являются суспензионные культуры клеток растений, метаболизм которых можно регулировать различным факторами, в первую очередь фитогормонами. Экзогенные ауксины и цитокинины влияют на инициацию и рост суспензионных культур клеток, а также могут активировать или ингибировать синтез растительных фенолов в зависимости от внесенных концентраций. Целью работы являлось выявление оптимального соотношения концентраций ауксинов и цитокининов для синтеза фенольных соединений и роста суспензионных клеток голубики щитковой.

Суспензионные культуры клеток *V. corymbosum* были получены из листовых каллусов, индуцированных из стерильных растений, размножаемых *in vitro*. Для инициации и выращивания суспензионных культур использовали питательную среду WPM с различными концентрациями фитогормонов: 1) 2,4-Д 0,5 мг/л, 2) 2,4-Д 1,5 мг/л, 3) 2,4-Д 0,5 мг/л и БАП 0,5 мг/л. Выращивание клеток проводили на свету с фотопериодом 16/8 часов свет/темнота, на орбитальных шейкерах с радиусом вращения 2 см и скоростью вращения 120 об/мин в течение 16 дней. По окончании цикла культивирования проводили анализ сырой и сухой массы клеток, их жизнеспособности, и уровня фенольных соединений (сумма растворимых фенольных соединений, флавоноидов, катехинов и проантоцианидинов).

Суспензионные клетки голубики, выращиваемые в питательной среде с разными концентрациями фитогормонов, отличались как жизнеспособностью и количеством клеток, так и степенью накопления фенольных соединений. При добавлении 0,5 мг/л 2,4-Д жизнеспособность составляла 50-54%, а в присутствии 1,5 мг/л 2,4-Д она снижалась до 46-50%. В случае совместного добавления цитокинина БАП и 2,4-Д (по 0,5 мг/л) жизнеспособность клеток была 53-54%. Также в этом случае сырая и сухая масса клеток выше была выше, а степень агрегации ниже.

Содержание фенольных соединений также зависело от типа и концентрации фитогормонов. При использовании только 2,4-Д обеих концентраций уровень фенольных соединений в клетках практически не отличался: содержание СРФС – 11,3-11,9, флавоноидов – 9,4-9,7, катехинов – 3,3, процианидинов – 7,2 мг/г сырой массы. В присутствии БАП накопление ФС происходило интенсивнее: содержание СРФС в 1,6 раза, флавоноидов в 3,3 раза, процианидинов в 2,5 раза, катехинов в 2,5 раза выше, чем при использовании только 2,4-Д.

Таким образом, выращивание суспензионных культур *V. corymbosum* для получения фенольных соединений оптимальнее проводить при добавлении в среду ауксинов (2,4-Д) и цитокининов (БАП). Полученная суспензионная культура клеток голубики щитковой может являться перспективным источником ценных биологически активных фенольных соединений.

**ВЛИЯНИЕ РII-ПОДОБНОГО БЕЛКА POTN НА АКТИВНОСТЬ АТФАЗНОЙ
СУБЪЕДИНИЦЫ ТРАНСПОРТЕРА ПОЛИАМИНОВ В КЛЕТКАХ
*LENTILACTOBACILLUS HILGARDII***

З. И. Исхакова, Д. Э. Журавлева, А. Р. Каюмов

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

Понимание молекулярных механизмов адаптации бактерий к изменениям окружающей среды составляет основу поддержания гомеостаза микробиомов естественных и искусственных биотопов. В естественных местообитаниях молочнокислых бактерий может возникнуть голодание по доступным источникам азота, углерода или энергии. Тем не менее регуляция их азотного обмена остается неизученной и представлена лишь в единичных работах. Как правило, у большинства бактерий метаболизм азота регулируется РII-подобными белками в ответ на доступность питания и энергии посредством восприятия изменений внутриклеточного уровня АТФ, АДФ, 2-оксоглутарата и глутамина. У единичных представителей класса *Bacilli* ген РII-подобного белка PotN имеет уникальный генетический фон и локализован в пределах оперона *potANBCD*, кодирующего ABC-транспортёр спермидина/путресцина, продуктов метаболизма аминокислот. Максимальная экспрессия оперона *potANBCD* наблюдалась при переносе на среду, содержащую спермидин как единственный источник азота, и подавлялась при росте с глутаматом и глутамином. Это свидетельствует о наличии энергообеспечения как ведущего фактора, определяющего уровень транскрипции оперона *potANBCD* в клетках *Lentilactobacillus hilgardii*. Ранее нами было показано, что белок PotN взаимодействует с белком PotA, который является АТФазной субъединицей транспортёра полиаминов в клетку, в условиях повышенного содержания АДФ в клетках. Для определения влияния этого взаимодействия на работу белка PotA, мы измеряли АТФазную активность очищенного С-концевой домен белка PotA (PoAc), выполняющий регуляторную функцию. Полученные данные свидетельствуют о том, что белок PoAc, сохраняет АТФазную активность, и способен гидролизовать АТФ. В то время как при взаимодействии с белком PotN, PoAc теряет свою активность. Это говорит о том, что белок PotN выступает ингибитором активности белка PotA, и влияет на работу всего транспортёра, тем самым регулируя поступление полиминов в клетку.

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

АУТОАНТИТЕЛА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ РЕКОНСТРУКЦИИ КОЛЛАГЕНА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ОСТЕОПАТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

А. Ихлеф

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский просп., 47; *Adam.ikh.on@gmail.com*

Соединительная ткань (СТ) составляющая интерстиций, связки, сухожилия и др. способна к ремоделированию для адаптации к двигательному и постуральному стереотипам. Задачей остеопатического лечения является устранение ограничение подвижности в тканях организма, за счет механического воздействия, в частности, на СТ. Ремоделирование СТ может оставлять след в относительных показателях аутоантител к коллагену за счет иммунного клиренса, что может быть важно для описания механизмов воздействия остеопатической коррекции на тканевом уровне. Цель исследования – обосновать возможности влияния на СТ остеопатического лечения путем оценки иммунного статуса.

Дизайн исследования: клиническое проспективное исследование, Случайным образом отобранные 10 человек в возрасте 20 до 52 лет. Критерии включения: 1) возраст от 20 до 52 лет; 2) наличие глобальных, регионарных и локальных СД. Критерии невключения: противопоказания для остеопатической коррекции, прием, иммунодепрессантов и иммуномодуляторов, прием гормональных препаратов, наличие аутоиммунных заболеваний, ВИЧ-инфекция, острые заболевания, перенесенные в течении последних 6 недель, беременность.

Методы воздействия и обследования пациентов до и после курса остеопатической коррекции: 1) остеопатическое обследование; 2) оценка соотношения титров антител по методу ЭЛИ-Висцеро-Тест-24. Данный тест позволяет оценить отношение сывороточного содержания аутоантител по отношению к нормальной пулированной сыворотке аутоантител.

Статистически значимо повысились относительное содержание аутоантител к основному белку СТ коллагену ($p=0,037$) с медианного значения 6% (ИКР 2-9%) до 11% (ИКР 2-22%). Изначальные показатели выходили за пределы нормы только у одного пациента, что означает отсутствие иммунного процесса в СТ у основной массы обследуемых. В 6 из 8 случаев, в частности у пациента с уже аномальными показателями, рост показателя превышал границу нормы, что говорит о недавно и на данный момент протекающей иммунной реакции с учетом интервала наблюдения в 5 недель после курса лечения.

Предположительно, данные изменения связаны с ремоделированием СТ, которая запускается остеопатической коррекцией и может достигнуть видимых изменений в течение 5 недель. Видимо, иммунная система производит клиренс волокон коллагена, требующих перестройки, что вызывает рост относительных показателей аутоантител к коллагену. На основании полученных результатов можно заключить, что одной из точек приложения остеопатической коррекции является СТ.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КВЧ-ТЕРАПИИ НА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У САМЦОВ КРЫС

А. А. Казаков, О. А. Сухаревская, А. Д. Менделева, С. В. Копылова

Университет Лобачевского, 602033, Нижний Новгород, просп. Гагарина 23;

buch582@mail.ru

В настоящее время ведущей медицинской и социальной проблемой являются воспалительные заболевания органов малого таза, широко распространенные в структуре инфекционной патологии человека. В большинстве случаев, воспалительными процессами органов малого таза страдают сексуально активные женщины детородного возраста и мужчины разных возрастов, что крайне неблагоприятно отражается в дальнейшем на их репродуктивном здоровье. Трудности лечения воспалительных процессов антибиотиками обуславливается наличием внутренних барьерных и защитных систем, которые не дают в полной мере оказать фармакологический эффект. В настоящее время накоплены данные о положительном влиянии КВЧ-терапии при лечении воспалительных процессов органов малого таза. Однако, глубинные механизмы влияния КВЧ-терапии на организм человека практически не изучены.

Целью работы являлась оценка эффекта курсовой КВЧ-терапии при хроническом воспалении предстательной железы у самцов крыс по гемодинамическим показателям крови и активность вегетативной нервной системы.

Исследования проводились на 26 белых самцах крыс линии Sprague Dawley (SD). Для моделирования воспалительного процесса предстательной железы использовалась смесь димексида и скипидара в объемном соотношении 4:1. Животные были поделены три группы: опытная группа, которая подвергалась ЭМИ КВЧ, контрольная группа с хроническим воспалением предстательной железы и интактные животные. Проводилось лечение опытной группы крыс с помощью аппарата для КВЧ-терапии «СЕМ-ТЕСН» (Россия), с излучателем частотой электромагнитного излучения 40-43 ГГц. Курс лечения состоял из 15 процедур по 10 мин. Артериальное давление и частоту сердечных сокращений у крыс регистрировали одну минуту, с помощью системы неинвазивного измерения кровяного давления грызунов «Систола», предназначенную для измерения систолического и диастолического давления с хвоста грызунов. Забор крови осуществлялся из подъязычной вены и проводился анализ на содержание альбумина в плазме и электрофоретическую подвижность тромбоцитов.

Анализ показателей артериального давления у опытной группы, подвергаемой КВЧ-терапии показал, что диастолическое давление на протяжении всего эксперимента было ниже, чем у контрольной группы крыс. Кроме того, показатели систолического и диастолического давления в опытной группе крыс на пятые и десятые сутки после окончания курса КВЧ-терапии были сопоставимы со здоровыми животными, в то время как в контрольной группе показатели значительно отличались в сторону повышения давления. Уровень электрофоретической подвижности тромбоцитов в опытной группе крыс был значительно повышен относительно контрольных животных и практически достигал значений интактной группы, в то время как у больных животных показатели были на порядок ниже. Концентрация альбумина на десятые сутки при КВЧ-терапии была повышена на 20% относительно контрольной группы животных, что является положительным признаком в системе белкового обмена.

Таким образом, положительные тенденции в изменениях артериального давления вкупе с повышением активности тромбоцитов и концентрации альбумина на десятые сутки, позволяют сделать вывод об эффективности воздействия КВЧ-терапии при воспалительном процессе хронического характера.

О БИОРАЗНООБРАЗИИ БЕРЕЗНЯКОВ, ФОРМИРУЮЩИХСЯ НА ГАРЯХ 2010 ГОДА

И. М. Камалтдинов, М. В. Бекмансуров

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;
rain99s89@gmail.com

Леса выступают в роли одного из важнейших механизмов, поддерживающих и восстанавливающих условия жизни на планете. Одни из самых серьезных отрицательных последствий на биосферу оказывают пожары. Но в то же время пожары – это неотъемлемая часть жизни многих лесов, они являются мощным экологическим фактором, впоследствии меняющим кардинальным образом территории пирогенных воздействий. Причинами их возникновения могут послужить явления как природного, так и антропогенного характера. Целью данной работы является изучение постпирогенных сукцессий на горях 2010 г. в сосново-березовых лесах Медведевского района Республики Марий Эл.

Анализ экологического пространства местообитаний проводили с помощью компьютерной обработки флористических списков геоботанических описаний, выполненных нами в 2019 г.

Материал для исследования был собран на 4 участках, пострадавших от пожара в 2010 г., на каждом из которых были заложены пробные площади размером 4000 м². Пробная площадь (ПП) №1 расположена в посадках березы (координаты: 56°24'22" с.ш. и 47°48'37" в.д.). ПП № 2 заложена в березняке молиниевом (координаты: 56°24'50" с.ш. и 47°49'50" в.д.). Этот участок представляет собой территорию, вырубленную после пожара в сосняке с высоким участием березы. Расчистка участка не проводилась. Здесь имеются как выкорчеванные, так и не выкорчеванные пни. ПП № 3 березняк наземно-вейниковый (56°25'18" с.ш. и 47°49'23" в.д.), расположена в Куярском лесничестве Медведевского района. ПП №4 березняк орляково-черничный (контрольный участок), находится на территории Куярского лесхоза (координаты: 56°59'00" с.ш. и 47°50'17" в.д.). Почвы местообитаний исследованных сообществ характеризуются широким диапазоном увлажнения, кислые, бедные азотом и другими элементами минерального питания.

Таксономическое разнообразие исследованных гарей представлено 38 видами сосудистых растений, 17 семейств. Максимальным видовым богатством и видовой насыщенностью по сравнению с другими участками характеризуются посадки березы. В березняке молиниевом эти показатели минимальны. Наиболее обособленный флористический состав по сравнению с другими наблюдается в березняке орляково-черничном. Максимальное сходство имеют березняк молиниевый и березняк наземно-вейниковый. В спектре экологическо-ценотических групп преобладают боровые и бореальные виды. Доминирующей экологической группой растений по отношению к освещенности являются гелиофиты; по отношению к увлажнению – мезофиты; по отношению к плодородию почв – мезотрофы.

ПОЛИМОРФНЫЙ МАРКЕР ГЕНА *XRCC1* И ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ ПРИ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ РАННЕГО ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М. А. Капралова¹, П. К. Бреннер¹, О. О. Гордеева², Д. С. Ходырев³, С. В. Хохлова⁴, И. В. Колядина⁴, Т. М. Заварыкина¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119336, Москва, ул. Косыгина, 4; *karatariya@gmail.com*

²НМИЦ Онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115522, Москва, Каширское шоссе, 23

³ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, 115682, Москва, Ореховый бульвар, 28

⁴НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, 117198, Москва, ул. Академика Опарина, 4

Рак молочной железы (РМЖ) – наиболее распространенное онкологическое заболевание среди женщин в мире. Тройной негативный подтип РМЖ представляет собой агрессивный вариант этого заболевания, при котором отсутствуют известные мишени для таргетной терапии. Основным методом лечения в этом случае является химиотерапия (ХТ), в том числе с включением производных платины. В связи с этим поиск маркеров эффективности платиносодержащей химиотерапии при тройном негативном РМЖ является актуальной задачей, направленной на улучшение результатов лечения больных и уменьшение токсичности терапии. Цель работы – изучение полиморфного маркера гена *XRCC1* (rs25487) для оценки эффективности платиносодержащей химиотерапии при раннем тройном негативном РМЖ.

Были изучены образцы крови 72 пациенток с ранним тройным негативным РМЖ, получавших платиносодержащую неоадьювантную ХТ (доцетаксел или паклитаксел в комбинации с карбоплатином/цисплатином). Полиморфный маркер гена был исследован методом ПЦР в реальном времени с флуоресцентными аллельспецифичными зондами на приборе CFX96 (Bio-Rad, США). Результаты определения маркера сопоставляли с безрецидивной выживаемостью (БРВ) и общей выживаемостью (ОВ) с использованием метода Каплана-Мейера и log-rank теста.

Медиана времени наблюдения на момент анализа результатов составила 27,6 (6,4–66,9) мес. Носительство аллеля *T* маркера rs25487 гена *XRCC1* было связано с уменьшением медианы ОВ (34,6 мес. по сравнению с 24,3 мес. при отсутствии аллеля *T*, $p=0,040$) и тенденцией к уменьшению БРВ (32,6 мес. по сравнению с 19,9 мес. при отсутствии аллеля *T*, $p=0,077$).

Выявлена связь полиморфного маркера rs25487 гена *XRCC1* с БРВ и ОВ у пациенток с ранним тройным негативным РМЖ, что может позволить избежать нежелательной токсичности лечения и индивидуализировать режимы неоадьювантной химиотерапии.

ВАЛИДАЦИЯ СИСТЕМ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ВАКЦИННЫХ И ПОЛЕВЫХ ШТАММОВ ВИРУСА АЧС НА ОСНОВЕ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

С. В. Карамышева¹, Е. А. Потемкин², Г. С. Кольцова³

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
svetlanak4419@gmail.com

²Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального исследовательского центра вирусологии и микробиологии, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3

³Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, 601125, пос. Вольгинский Владимирской обл., ул. Академика Бакулова, 1

Африканская чума свиней (АЧС) является одной из наиболее значимых и трудно контролируемых болезней домашних свиней. Возбудитель АЧС – ДНК-содержащий вирус, единственный представитель семейства *Asfarviridae*. В настоящее время отсутствуют эффективные методы профилактики и лечения, что приводит к большим экономическим потерям. Однако выделены в природе и получены в лабораторных условиях в результате аттенуации в культурах клеток или направленного изменения генома вируса множество авирулентных изолятов/штаммов, которые при экспериментальном заражении не вызывают гибели домашних свиней и в ряде случаев способны формировать защиту от болезни после заражения исходным вирулентным вариантом. Некоторые кандидатные вакцинные препараты в настоящее время проходят испытания в «полевых» условиях. В случае использования вакцин на основе живых ослабленных штаммов необходимо разработать методы дифференциации данных вариантов и полевых вирулентных штаммов.

Цель работы – валидация методик дифференциации вирулентных и аттенуированных штаммов вируса АЧС путем проведения ПЦР в реальном времени.

В экспериментах использовали образцы ДНК 5 штаммов вируса АЧС из государственной коллекции ФГБНУ ФИЦВиМ: М78, Волгоград/01, КК262, МК200, К49. Данные штаммы ранее были отнесены к трем различным геногруппам и серогруппам вируса АЧС на основании филогенетического анализа и результатов реакции задержки гемадсорбции соответственно. Для дифференциации вирулентных и аттенуированных штаммов были использованы праймеры и зонды, комплементарные двум генам вируса, расположенным в различных частях генома: EP402R (CD2v) и MGF360 – 14L. Праймеры и зонд, комплементарные гену B646L, кодирующему белок капсида p72, были использованы для выявления всех вариантов вируса. В серии экспериментов было продемонстрировано, что все исследуемые образцы вирусной ДНК были выявлены с использованием праймеров и зондов, комплементарных генам B646L и EP402R. Этот результат был ожидаемым, так как известно, что данные штаммы не содержат делеций в данных генах. Было отмечено, что предложенные праймеры позволяют выявлять штаммы вируса, относящиеся к различным генотипам. На основании результатов ПЦР в реальном времени было также продемонстрировано, что у аттенуированных штаммов (КК262, МК200) отсутствует ген MGF360 – 14L. Делеция гена MGF360 – 14L может встречаться как у естественно аттенуированных вариантов вируса (NHV), так и у рекомбинантных штаммов с удаленной областью генов мультигенных семейств MGF360 и MGF530. На основании проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что предложенные системы олигонуклеотидных праймеров позволяют выявлять различные варианты вируса АЧС. Праймеры, комплементарные гену MGF360 – 14L, позволяют эффективно дифференцировать аттенуированные и вирулентные штаммы и могут быть использованы для скрининговых исследований. В связи с тем, что некоторые кандидатные вакцинные штаммы имеют делеции и в других областях генома (гены I177L и мультигенного семейства MGF110) необходимо дополнить представленные системы в ходе дальнейших работ.

LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM FCA3L КАК ПОТЕНЦИАЛЬНО ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ШТАММ И ЕГО ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ

**О. С. Карасева, Г. Д. Ожегов, Ф. С. Ахатова, Е. А. Анисимова, Р. Ф. Фахруллин,
Д. Р. Яруллина**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
olkakarp66@gmail.com

Лактобациллы широко используются в пищевой отрасли и пробиотикотерапии из-за своих консервирующих свойств, антагонистической активности против патогенов и благотворных эффектов на здоровье человека. Однако большое количество потенциально полезных пробиотических микроорганизмов остаются неизученными. Целью данной работы явилась оценка биологических свойств и полногеномное секвенирование штамма *Lactiplantibacillus plantarum* FCa3L.

Бактерии *L. plantarum* FCa3L были выделены из квашеной капусты в 2014 году. Таксономическая идентификация выполнена с помощью MALDI Biotyper (Bruker, Германия) и методом секвенирования гена 16S рРНК. Секвенирование генома выполнено на приборе Illumina MiSeq. Сборка генома с помощью ассемблера Unicycler v. 0.4.8. позволила получить 62 контига. Из них 61 контиг объединяются в скаффолд длиной 3,3 млн. п.н. Один циклический контиг был идентифицирован как колифаг phi-X174. Аннотация на серверах EggNOG и RAST показала, что штамм *L. plantarum* FCa3L не имеет факторов патогенности, но обладает генами множественной лекарственной устойчивости. Выявлены гены, отвечающие за синтез биотина, тиамин, рибофлавина и витаминов группы В.

Анализ антагонистической активности *L. plantarum* FCa3L, выполненный методом «агаровых блоков» против ряда патогенных и условно-патогенных бактерий, позволил установить, что данный изолят превосходит референсный штамм *L. plantarum* 8P-A3, выделенный из пробиотического препарата «Лактобактерин» («Лактобактерин сухой» (ФГУП НПО «Биомед»)), по способности угнетать рост *Morganella morganii*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* K-12, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* ATCC и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC. Установлен вклад кислотообразования (общая титруемая кислотность составила $1,46 \pm 0,24$ мМ/г) и продукции перекиси водорода в антагонистическую активность *L. plantarum* FCa3L.

Измеренные с помощью метода MATS (микробная адгезия к растворителю) гидрофильность, основные и электрон-донорные свойства поверхности клеток *L. plantarum* FCa3L указывают на их низкую адгезивность. При этом они превосходят референсный штамм 8P-A3 по адгезии на букальных эпителиоцитах и автоагрегации клеток.

Диско-диффузионным методом установлено, что бактерии *L. plantarum* FCa3L проявляют устойчивость к ванкомицину, ципрофлоксацину и аминогликозидам и чувствительны к ампициллину, рифампицину, клиндамицину, хлорамфеноколу, эритромицину и тетрациклину.

Данная работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования МЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

СОЧЕТАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ТАРГЕТНОЙ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА КЛЕТКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ *IN VITRO*

М. А. Карпова¹, Л. В. Крылова¹, В. П. Зорин², И. В. Балалаева¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mashamasha8159@gmail.com

²Белорусский государственный университет, 220050, Минск, просп. Независимости, 4,
Республика Беларусь

Монотерапия часто оказывается недостаточно эффективной при лечении злокачественных новообразований, в первую очередь из-за развития лекарственной устойчивости. Для преодоления этого ограничения была предложена комбинированная схема лечения онкологических заболеваний, при которой на раковую клетку одновременно воздействует несколько агентов, обладающих различным механизмом действия, что усиливает желаемый эффект. В частности, одним из возможных вариантов является совместное применение фотодинамической терапии и таргетных соединений.

Целью данного исследования была оценка сочетанного воздействия таргетной и фотодинамической терапии на клетки рака молочной железы *in vitro*. Таргетное воздействие было реализовано путем обработки клеток рекомбинантным токсином DARPIn-LoPE. Направляющий модуль DARPIn в составе токсина обеспечивает специфическое связывание с опухолевыми клетками, экспрессирующими рецептор HER2. Модуль LoPE (фрагмент экзотоксина *A Pseudomonas aeruginosa*) обеспечивает токсическое действие. В качестве фотодинамического агента использовали фотодитазин (ООО «Вета-Гранд», Россия), представляющий собой N-диметилглюкаминую соль хлорина еб.

Для работы *in vitro* были выбраны культуры клеток аденокарциномы молочной железы человека SK-BR-3 и MDA-MB-231, обладающие различным уровнем экспрессии рецептора HER2. Влияние фотодитазина и DARPIn-LoPE на жизнеспособность клеточных культур оценивали с помощью МТТ-теста. Цитотоксичность DARPIn-LoPE оценивали через 48 часов инкубации. Для оценки фотодинамической активности фотодитазина производили инкубацию в течение 4 часов и последующее облучение в дозе 20 Дж/см² в спектральном диапазоне 655–675 нм. При оценке сочетанного воздействия таргетной и фотодинамической терапии клетки инкубировали 48 часов с DARPIn-LoPE, затем заменяли среду на содержащую фотодитазин, инкубировали 4 часа и облучали.

При исследовании цитотоксичности DARPIn-LoPE было установлено, что он оказывает высокотоксичное действие на клетки линии SK-BR-3, гиперэкспрессирующие HER2, и подавляет их жизнеспособность в пикомолярных концентрациях. Клетки MDA-MB-231 оказались в тысячу раз менее чувствительными к токсину, чем SK-BR-3, что обусловлено низкой экспрессией целевого рецептора. Для фотодитазина существенной темновой токсичности выявлено не было. Показано, что добавление фотодитазина в микромолярных концентрациях и облучение клеток в дозе 20 Дж/см² вызывает фотоиндуцированную гибель клеток обеих культур. Сочетанное действие таргетной и фотодинамической терапии было реализовано на клетках культуры SK-BR-3. При добавлении исследуемых соединений в дозах, соответствующих IC₅₀, было выявлено суммирование терапевтических эффектов, при этом относительная жизнеспособность клеток снизилась до 10%.

Полученные данные указывают на значительное возрастание цитотоксического эффекта при сочетании фотодитазина и DARPIn-LoPE, что говорит о целесообразности их дальнейшего изучения в качестве комбинированной противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-20168).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СЫРОГО МОЛОКА

Д. Д. Кашина^{1,2}, П. А. Андриянов²

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dasha.kashina99@mail.ru

² Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального исследовательского центра вирусологии и микробиологии, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3

Неферментирующие грамотрицательные бактерии играют ключевую роль в современной медицине благодаря своей способности существовать во внутрибольничных условиях и вызывать нозокомиальные инфекции, а также быстро приобретать устойчивость к широкому спектру антимикробных препаратов. В настоящее время именно бактерии рода *Acinetobacter* и вида *Pseudomonas aeruginosa* рассматриваются в качестве двух из шести наиболее опасных патогенов для развитых стран, признанных ВОЗ (группа ESKAPE). Отдельный интерес представляют клоны данных возбудителей, циркулирующие во внебольничных условиях.

Целью настоящей работы была идентификация, микробиологическая характеристика и оценка спектра чувствительности штаммов неферментирующих бактерий, выделенных из сырого молока, к клинически актуальным антимикробным препаратам.

В работе были использованы пять штаммов бактерий (ML-21, ML-37, ML-42, ML-53, ML-57), выделенных из сырого коровьего молока. Пробы молока были отобраны самоотбором, который проводился с августа по сентябрь 2020 года на рынке фермерской продукции г. Нижнего Новгорода (рынок Средной).

Исследование включало три этапа: идентификация 5 исследуемых штаммов путем анализа последовательности гена 16S рРНК, морфологическое описание идентифицированных штаммов и определение их чувствительности к антибиотикам.

Для выделения ДНК из суточных культур использовали набор ДНК-сорб-В. ПЦР проводили с помощью универсальных праймеров (27F и 1492R). Целевые ампликоны (1500 п.н.) были очищены и секвенированы. Консенсус, собранный из полученных чтений, был сравнен с референтными последовательностями базы данных EZBioCloud. Штаммы ML-21 и ML-42 идентифицированы как *P. aeruginosa*, штаммы ML-37 и ML-57 принадлежали к виду *A. baumannii*, штамм ML-53 – к виду *A. pittii*.

Для определения культуральных и морфологических свойств производили посев бактерий на среду Nutrient agar техникой истощающего штриха. Изучение гемолитической активности проводили путем посева культур на 5% кровяной агар. Все исследуемые штаммы имели характерные свойства для данных видов бактерий, за исключением *A. baumannii* ML-53. У последнего визуально был отмечен слабый альфа-гемолиз.

Оценку спектра чувствительности исследуемых штаммов к клинически актуальным антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом. У штаммов *P. aeruginosa* ML-21, ML-42 не обнаружена устойчивость к антибиотическим препаратам. Все 3 штамма *Acinetobacter* spp. были устойчивы к тобрамицину. Штамм *A. baumannii* ML-57 был устойчив к амикацину. Штамм *A. pittii* ML-53 был устойчив к левофлоксацину и ципрофлоксацину.

Полученные результаты свидетельствуют о циркуляции устойчивых штаммов в молоке, что в свою очередь указывает на бесконтрольное применение антибиотиков в хозяйствах. Сырое молоко может являться фактором передачи устойчивых бактерий от животных к человеку. Все это говорит о необходимости контроля применения антибиотиков в сельскохозяйственном секторе, а также о необходимости эпидемиологического мониторинга устойчивых штаммов.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА И ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH ЗДОРОВЫХ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СФЕРОИДОВ И СФЕРОИДОВ С СИНДРОМОМ ДАУНА

А. С. Каширина¹, А. И. Гаврина¹, В. Елагин¹, Э. Б. Дашиинимаев², А. В. Кашина¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1; *bystrova93@gmail.com*

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1/7

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) на сегодняшний день остаются самым перспективным объектом исследований в различных областях клеточной биологии, одной из которых является изучение наследственных заболеваний человека. Известно, что заболевания головного мозга, в том числе синдром Дауна (СД), сопровождаются изменением энергетического метаболизма клеток. Переключение метаболических путей напрямую связано с изменением другого важного параметра – внутриклеточного pH. Для адекватной оценки метаболических изменений и тестирования препаратов для коррекции клеточного метаболизма в 3D-системах с заболеваниями, необходимы методы, позволяющие отслеживать изменения в режиме реального времени при малоинвазивном воздействии на образцы. Среди современных методов визуализации флуоресцентная микроскопия и FLIM позволяют решить эти задачи. Таким образом, целью нашей работы был сравнительный анализ энергетического метаболизма и внутриклеточного pH нейрональных сфероидов с нормальным кариотипом (НК) и сфероидов с СД, с помощью флуоресцентной микроскопии и FLIM.

Для формирования сфероидов суспензии клеток линий NSC-KYOU, NSC-DYP0730 и NSC-SyNer-2 распределяли по чашкам Петри методом «висячих капель». Полученные сфериды были охарактеризованы методами ИЦХ и количественного ПЦР. Для получения изображений использовали LSM 880 оснащенный FLIM системой. Флуоресценцию НАД(Ф)Н возбуждали на длине волны 750 нм, регистрировали в диапазоне 455–500 нм. Флуоресценцию ФАД возбуждали на длине волны 900 нм, регистрировали в диапазоне 500–550 нм. Флуоресценцию SyNer-2 и BCECF возбуждали в длинах волн 405 и 488 нм, регистрировали в диапазоне 500–550 нм. Полученные изображения обрабатывались в программах ImageJ (НИН, США) и SPImage (Becker&Hickl, Германия). Для исследования энергетического метаболизма были проанализированы следующие параметры: окислительно-восстановительное (редокс) отношение (ФАД/НАД(Ф)Н), времена жизни флуоресценции и их вклады свободной и связанной форм НАД(Ф)Н. Оценка редокс-отношения показала, что значения этого параметра выше в НК-сфероиде по сравнению со СД-сфероидом ($0,13 \pm 0,02$ и $0,06 \pm 0,01$). Кроме того, мы показали, что клетки в СД-сфероиде характеризуются более низкими значениями вклада времени жизни флуоресценции связанной формы НАД(Ф)Н, чем клетки в НК-сфероиде. Для исследования внутриклеточного pH, в предварительных экспериментах были проведены калибровки для каждого флуорофора. В НК-сфероиде среднее значение отношения интенсивностей флуоресценции (I488/I405) составило $0,281 \pm 0,003$, что по калибровочной кривой соответствовало абсолютным значениям pH $7,05 \pm 0,05$. В СД-сфероиде среднее значение отношения интенсивностей флуоресценции составило $1,52 \pm 0,08$, что согласно калибровочной кривой соответствует абсолютным значениям pH $7,18 \pm 0,06$. Полученные результаты указывают на более гликолитический фенотип и более щелочные значения внутриклеточного pH клеток в СД-сфероиде.

Таким образом в нашем исследовании был проведен комплексный анализ энергетического метаболизма и pH в здоровых нейрональных сфероиде и с синдромом Дауна. Мы впервые показали, что гликолиз является доминирующим способом обеспечения энергией клеток в СД-сфероиде. Также, было показано, что клетки в СД-сфероиде характеризуются более щелочным pH по сравнению со здоровыми.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (№17-7520178).

ОЦЕНКА УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫХ CpG

Е. А. Кашицына, А. Д. Перенков, И. И. Юсипов, М. В. Ведунова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
spring_dusk@mail.ru

Эпигенетические механизмы, которые включают метилирование ДНК, модификацию гистонов и нкРНК, могут управлять работой генома без изменения последовательности ДНК. Нарушение паттернов экспрессии генов, ассоциированное с aberrантным метилированием ДНК, может привести к аутоиммунным заболеваниям, раку, преждевременному старению и различным другим заболеваниям. Специфические изменения в метилировании ДНК связаны с гипометилированием либо гиперметилированием, но преобладающей тенденцией является гиперметилирование CpG-богатых промоторных последовательностей и гипометилирование генов с низким содержанием CpG. Уровни метилирования некоторых CpG-динуклеотидов демонстрируют сильную корреляцию с возрастом, а в совокупности метилирование таких сайтов может использоваться как «эпигенетические часы» для определения биологического возраста. Целью данного исследования явилось определение статуса метилирования некоторых CpG, ассоциированных с возрастом.

Материалом для исследования являлись 23 образца цельной венозной крови. Выделение ДНК осуществляли с помощью коммерческого набора GeneJET (Thermo Fisher Scientific, США), а затем проводили бисульфитную конверсию с использованием набора EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, США). Далее проводили локус-специфичную ПЦР с помощью набора PCR Reagent Kit (Agena Bioscience, США), а затем вторую ПЦР с терминирующими дидезоксинуклеотидами с использованием набора iPLEX[®] Gold Reagent Kit (Agena Bioscience, США). Определение метилирования ДНК проводили с помощью технологии MALDI-TOF-масс-спектрометрии на генетическом анализаторе MassARRAY (Agena Bioscience, США). Исследовали 12 CpG: cg07547549, cg23256579, cg08262002, cg26290632, cg01620164, cg11649376, cg19283806, cg16008966, cg24079702, cg06639320, cg14556683, cg22454769. Полученные результаты были обработаны с использованием пакета программ Statistica 12.0. Достоверность различий определялась с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Для определения корреляционной связи между возрастом и уровнем метилирования использовали коэффициент корреляции Спирмена.

Был определен уровень метилирования 12 CpG-динуклеотидов у 23 условно здоровых испытуемых. Были сформированы 7 разновозрастных групп: 20–30, 30–40, 40–50, 50–60, 60–70, 70–80 и 80–90 лет. Уровень метилирования CpG cg22454769, cg16008966 и cg06639320 в разновозрастных выборках имеет достоверные различия ($p < 0,05$). Также была выявлена корреляция между возрастом и уровнем метилирования CpG cg22454769 ($r = 0,68$), cg08262002 ($r = -0,64$), cg16008966 ($r = -0,66$) и cg06639320 ($r = 0,74$) ($p < 0,05$). Для остальных CpG достоверной связи с возрастом установлено не было ($p > 0,05$). Результаты наших исследований могут лечь в основу разработки наиболее точных и перспективных эпигенетических часов.

Работа проведена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 074-02-2018-330 «Цифровая персонализированная медицина здорового старения (ЦПМ-старения): сетевой анализ больших мультимедийных данных для поиска новых диагностических, предсказательных и терапевтических целей».

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ КРАСНО-ЖЕЛТОЙ ГУМУСНО-ФЕРРАЛЛИТНОЙ ПОЧВЫ И СОПРЯЖЕННЫХ СУБСТРАТОВ ПОД ТРОПИЧЕСКИМ ЛЕСОМ (ЗАПОВЕДНИК КОН ТЮ РАНГ, ВЬЕТНАМ)

А. В. Князева

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

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290, Пушкино Московской обл., просп. Науки, 5;

aknyazeva1999@gmail.com

Ферраллитные почвы являются наиболее широко распространенными на территории Вьетнама. Данные почвы также являются плодородными и, как следствие, первыми по масштабам возделывания под сельскохозяйственные культуры во Вьетнаме, что определяет актуальность изучения данного типа почв. Значительная доля целинных красно-желтых ферраллитных почв расположена на территории заповедников и национальных парков, что позволяет изучать прокариотное сообщество без антропогенной нагрузки для использования данных в целях рационального использования земель. В рамках наших исследований было изучено общее микробное разнообразие и разнообразие метаболически активных организмов, приуроченных к красно-желтой гумусно-ферраллитной почве заповедника Кон Тю Ранг и сопряженным субстратам (растительному опаду и «подвешенной» почве). Подобные комплексные исследования ранее не проводились, что и определяет их новизну.

В фитоценозах, развивающихся на красно-желтой гумусно-ферраллитной почве, высокие показатели численности бактериальных клеток были приурочены к горизонту А почвы (1,6 млрд клеток/г почвы) и «подвешенной» почве (4,36 млрд клеток/г почвы), ниже они были в растительном опаде и минимальны в почвенном горизонте АВ (1,38 и 1,5 млрд клеток/г почвы, соответственно). Для фитоценозов, развивающихся на ферраллитных почвах, высокие значения длины актиномицетного мицелия были приурочены к образцам «подвешенной почвы» (680 м/г почвы), значительно ниже были значения этого показателя в образцах опада (200 м/г почвы). Длина актиномицетного мицелия возрастала вниз по почвенному профилю. В целом более низкие значения длины актиномицетного мицелия в почвенных образцах по сравнению с почвами умеренного пояса могут быть связаны с закислением почвы.

Численность сапротрофного бактериального комплекса (СБК) уменьшалась вниз по профилю. Максимальные показатели численности зафиксированы в образцах опада (14,8 млн КОЕ/г почвы), они были выше, чем в верхнем почвенном горизонте примерно в 4 раза. Численность сапротрофных бактерий в «подвешенной» почве была выше, чем в почвенных горизонтах и составляла 9 млн. КОЕ/г почвы. При общем невысоком разнообразии СБК на родовом уровне были выявлены некоторые закономерности. Доминантами являлись роды *Streptomyces*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, субдоминанты – роды *Micrococcus* и *Arthrobacter*, минорные компоненты представлены родами *Rhodococcus*, *Cytophaga*, *Promicromonospora*, *Aquaspirillum* и некоторыми другими родами грамотрицательных бактерий.

В рамках исследования метаболически активных организмов прокариотного комплекса исследуемых субстратов было учтено количество копий генов *nifH* и *alkB* для их определения биотехнологического потенциала. Было показано, что количество копий обоих генов в образцах «подвешенной почвы» является максимальным в сравнении с образцами почвы и опада. Количество копий гена *nifH* и *alkB* для «подвешенной почвы» (84 и 314 тыс. копий/г почвы, соответственно) сравнимо с почвами умеренной климатической зоны, что указывает на перспективные биотехнологические возможности использования данного субстрата. Высокое биологическое разнообразие красно-желтой гумусно-ферраллитной почвы и сопряженных субстратов делает данный локус перспективным с точки зрения выделения хозяйственно значимых штаммов микроорганизмов.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АРИЛПОРФИРИНОВ С МОНОМЕРНЫМИ И ПОЛИМЕРНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ β-ЦИКЛОДЕКСТРИНА

И. В. Коблов^{1, 2}, Т. И. Ермилова², И. Е. Кравченко¹, И. В. Балалаева³, В. П. Зорин^{1, 2}

¹Белорусский государственный университет, НИЛ биофизики и биотехнологий, Минск, просп. Независимости 4, Республика Беларусь;

²Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь

³ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vpzarin@mail.ru

Одним из перспективных материалов для разработки новых лекарственных форм препаратов являются циклодекстрины (ЦД). ЦД представляют собой циклические олигосахариды, состоящие из D-глюкопиранозных звеньев. Комплексы включения на основе ЦД широко используются в фармацевтике для увеличения растворимости многих лекарственных средств. Основным принципом использования ЦД является их способность благодаря своей уникальной структуре образовывать с множеством органических и неорганических соединений комплексы типа «гость–хозяин». Недавние исследования показали, что ЦД могут с высокой эффективностью образовывать комплексы включения с арилзамещенными порфиринами (АП). Это свойство позволяет использовать ЦД в фотодинамической терапии для создания новых лекарственных форм фотосенсибилизаторов, обладающих особыми фотофизическими и фармакологическими свойствами. Введение АП с ЦД предотвращает агрегацию, увеличивает химическую и фотохимическую стабильность фотосенсибилизатора, а также влияет на процессы распределения и локализации фотосенсибилизатора.

Исследования, проведенные в нашей лаборатории, показали, что производные β-ЦД наиболее подходят для создания новых фармакологических форм АП. Показано, что именно этот класс ЦД характеризуется наиболее высокими значениями констант образования комплексов включения с АП. Образование комплексов ЦД сопровождается изменениями фотофизических характеристик ФС: смещением положения полос спектров поглощения и испускания, увеличением квантового выхода флуоресценции (если флуоресценция тушится растворителем), увеличением времени триплетного состояния и др. Изменения в спектральных характеристиках АП связаны как с предотвращением агрегации пигмента в водной среде, так и с изменениями электронной системы и микроокружения тетрапиррольного кольца при встраивании в гидрофобную полость β-ЦД боковых заместителей АП.

Показано, что несмотря на то, что сами ЦД не проникают в клетку, их влияние на скорость перемещения молекул АП увеличивает накопление в клетках, изменяются процессы биораспределения в опухолевых тканях. Фармакокинетика комплексов АП и ЦД сильно зависит от свойств порфирина и от свойств ЦД. Решающим фактором в этом случае является константа комплексообразования и время существования комплекса.

Считается, что использование полимерных ЦД и материалов на их основе может позволить значительно увеличить время нахождения молекул фотосенсибилизатора в составе комплексов. В данной работе проведено сравнительное исследование процессов взаимодействия АП с мономерными и полимерными производными β-ЦД. Установлен ряд особенностей фотофизических характеристик АП в комплексах с полимерным ЦД, которые могут быть использованы для регистрации процессов диссоциации молекул фотосенсибилизатора из состава комплекса с полимером. Разработанные подходы использованы для сравнения процессов распределения АП в сыворотке крови при их введении в составе комплексов с мономерным и полимерным ЦД.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ АККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВАХ НИЖНЕГО НОВГОРОДА

Л. Д. Ковлер

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Handrakcid@yandex.ru

Тяжелые металлы (ТМ) являются одними из наиболее распространенных поллютантов урбанизированных территорий. Однако закономерности аккумуляции их в антропогенно трансформированных почвах городов остаются недостаточно исследованными. Поэтому актуальной проблемой является изучение этого вопроса для урбоэкосистем. В проведенном исследовании были использованы данные Росгидромета по валовому содержанию 10 ТМ (Hg, Fe, Zn, Pb, Ni, Mn, Cd, Cu, Co, Cr) в почвах 60 участков на территории Приокского и Автозаводского районов Нижнего Новгорода в 2018 г.

В программах BioStat и Statistica с помощью критерия Шапиро-Уилка было установлено, что распределение данных в выборках соответствует нормальному, поэтому был проведен корреляционный анализ по Пирсону. В результате проведения корреляционного анализа установлены связи между содержанием ТМ в почве и рН почвы. Показано, что у Cu и Hg наиболее ярко выражена линейная отрицательная корреляция с рН почвы. После этого был проведен корреляционный анализ связи между содержанием различных ТМ в почве, в ходе которого было обнаружено множество низких r -значений, что говорит о систематичности обнаруженных значений. Множество значимых положительных корреляций с другими тяжелыми металлами (в том числе и друг с другом) имеют Mn, Pb, Ni, Cu и Cr, что говорит о том, что при высоком уровне одного из этих ТМ в почве, вероятнее всего, присутствуют и другие ТМ. Основным источником данных ТМ, за исключением Mn, является автомобильный транспорт, что, по-видимому, обусловило выявленные положительные корреляции между ТМ. В Нижнем Новгороде отмечаются высокие фоновые концентрации Mn. Известно, что оксиды марганца способствуют закреплению в почве ряда ТМ, что и обуславливает выявленные корреляции для Mn. Наименьшее количество значимых корреляций обнаружено у Co, Cd и Hg. Нужно отметить, что Cd имеет значимую положительную корреляцию с Zn, что связано с тем, что Cd сопутствует Zn в полиметаллических сульфидных рудах и редко образует самостоятельное месторождение. Также была получена положительная корреляция Fe и Ni, обусловленная способностью соединений Fe закреплять Ni в почве. Оценка концентраций ТМ в почве в единицах норматива (ПДК/ОДК) показала, что на отдельных участках отмечалось превышение норматива для Cu, Cr, Zn, Cd. Однако средние нормированные концентрации ТМ не превышали допустимых значений. Наиболее высокие средние нормированные концентрации отмечались для Zn, Pb, Ni, Mn, Cd, Cu (0,30–0,56 единиц норматива) среди них Cd, Pb, Zn относятся к первому классу опасности, а Cu и Ni – ко второму. Учитывая, что самоочищение почв от ТМ происходит очень медленно (коэффициент полужизни из почвы для ТМ составляет от 100 до нескольких тысяч лет), то в ближайшей перспективе следует ожидать превышение допустимых значений для этих ТМ.

Таким образом, на аккумуляцию ТМ в почвах Нижнего Новгорода влияют как антропогенные источники поступления ТМ (преимущественно автотранспорт), так и фоновое содержание некоторых ТМ (Mn, Fe), способствующих закреплению ТМ из антропогенных источников в почве.

ПРИМЕНЕНИЕ ХАИ ДЛЯ ПОИСКА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С КОГНИТИВНЫМ СТАТУСОМ, ПРИ СИНДРОМЕ ДАУНА Г. Ю. Козлов¹, М. И. Кривоносов¹, М. В. Ведунова¹, К. Франчески^{1,2}, М. Дж. Бакалини²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

kozlov.gr9@gmail.com

²Университет Болоньи, 40126, Болонья, Италия

Одним из аспектов, вносящих свой вклад в разнообразие поведенческих фенотипов при синдроме Дауна, является высокая вариабельность степени развития когнитивных функций. Формирующиеся в результате множественные паттерны когнитивного статуса обуславливают характерные поведенческие, интеллектуальные, коммуникативные способности индивидуума, что в значительной степени затрудняет процессы коррекции и диагностики. Природа данной вариабельности до сих пор остается мало изученной, однако уже проведенные исследования дают основания предполагать, что формирование подобных устойчивых фенотипических вариаций осуществляется за счет высокой вариативности экспрессии генов. Одним из механизмов управления активностью генов являются эпигенетические модификации, к которым, помимо прочих, относится метилирование ДНК.

Целью настоящей работы являлось определение взаимосвязи паттерна метилирования CpG-сайтов ДНК и уровня когнитивных способностей при помощи методов объяснимого искусственного интеллекта (xAI). Работа основана на двух массивах данных, находящихся в открытом доступе: первый (*Age-Related Changes of Adaptive and Neuropsychological Features in Persons with Down Syndrome*) (Ghezzi et al., 2014) содержит количественную оценку уровня метилирования ДНК у пациентов с синдромом Дауна, выраженную в виде β -значений — показателя, полученного при исследовании образцов крови с помощью биочипа Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip (Infinium 450k); второй (*Identification of a DNA methylation signature in blood cells from persons with Down Syndrome*) (Bacalini et al., 2015)) включает в себя результаты 10 когнитивных тестов, проведенных среди пациентов той же выборки. Исходные данные были подвергнуты предобработке и корреляционному анализу, после чего исследовались с помощью моделей машинного обучения. Алгоритмы машинного обучения были реализованы на языке Python и направлены на решение задач классификации (предсказание общего уровня того или иного когнитивного показателя на основе β -значений) и восстановления регрессии (предсказание вероятной балльной оценки на основе β -значений). В работе использовались следующие модели xAI: деревья решений, ансамбль решающих деревьев, XGBoost, Catboost, линейная и логистическая регрессия, линейный и квадратичный дискриминантный анализ, машина опорных векторов. Для ряда моделей также был дополнительно осуществлен подбор гиперпараметров с помощью кросс-валидации, после чего для каждого случая измерены метрики качества. С помощью валидных моделей были выделены группы значимых CpG-сайтов, установлены гены, содержащие эти сайты, и далее полученные группы генов проанализированы с помощью баз данных Gene Ontology (GO) и Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG).

Построенные модели машинного обучения дают возможность анализировать большие массивы данных с β -значениями, выявлять отдельные CpG-сайты, изменение метилирования которых существенно влияет на тот или иной показатель, и оценивать их вклад — было установлено, что выделенные валидными моделями группы генов или отдельные их представители связаны с развитием или нормальным функционированием нервной системы, работой внутриклеточных сигнальных путей, а также рядом процессов, интересных с точки зрения изучения молекулярных механизмов формирования тех или иных проявлений синдрома Дауна. Помимо этого, дальнейшее использование методов xAI в перспективе может служить альтернативой когнитивному тестированию и позволит находить данные, интересные не только для фундаментальных исследований, но и для прикладного применения в биологической и медицинской практике.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АРХИТЕКТУРЫ СКАФФОЛДА НА РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТИ В УСЛОВИЯХ IN VIVO

Д. С. Козлов^{1, 2}, Д. П. Крылов^{1, 2}, С. А. Родимова^{1, 2}, В. В. Елагин², А. И. Гаврина²,
Е. В. Загайнова^{1, 2}, Д. С. Кузнецова^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mail-kozlov2015@yandex.ru

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

Использование скаффолдов с подсаженными стволовыми клетками для восстановления костных дефектов является перспективной альтернативой классическим терапевтическим стратегиям, основанным на применении ауто- и аллотрансплантатов. Архитектура скаффолда – один из ключевых факторов, влияющих на локальную микроциркуляцию, а также на межклеточные взаимодействия. Так, перспективной технологией является создание гетерогенной структуры скаффолда, имитирующей структуру губчатой кости, что позволит повысить эффективность восстановления костной ткани, а также ускорить процесс остеогенной дифференцировки.

Целью данной работы стало проведение сравнительного анализа метаболического статуса МСК, культивируемых на гетерогенных и гомогенных скаффолдах, с использованием нового подхода метаболической визуализации в сочетании с анализом экспрессии генов-маркеров остеогенеза.

В работе были использованы скаффолды, полученные методом двухфотонной полимеризации из модифицированного метакрилат-содержащего полилактида. Скаффолды с гомогенной архитектурой имели одинаковый размер пор, в гетерогенных скаффолдах средний слой пор имел увеличенный диаметр. Для оценки ремоделирования кости in vivo скаффолды были имплантированы в дефекты критического размера, созданные в костях свода черепа мышей линии C57Black/6. Анализ уровня экспрессии генов-маркеров остеогенной дифференцировки МСК был проведён методом дельта-дельта-St, модифицированным J. Hellemans, с использованием интеркалирующего красителя SYBR green и протокола ступенчатой (touchdown) ПЦР в режиме реального времени. Метаболический статус клеток оценивали по интенсивности аутофлуоресценции и на основе данных о времени жизни флуоресценции различных форм НАД(Ф)Н и ФАД с применением время-разрешённого метаболического имиджинга (FLIM).

Молекулярный анализ показал, что пик экспрессии RUNX 2 (основного транскрипционного фактора ранних этапов остеогенной дифференцировки) приходится на первый месяц формирования костной ткани после имплантации скаффолдов. В течение первых двух месяцев наблюдается высокий уровень экспрессии генов белков костного матрикса. Анализ метаболического статуса клеток на скаффолдах показал переход от гликолиза к окислительному фосфорилированию в качестве основного источника энергии, что свидетельствует о дифференцировке клеток. Эти результаты указывают на высокую скорость метаболических перестроек, связанных с остеогенной дифференцировкой в МСК на скаффолдах. Кроме того, были выявлены различия в экспрессии генов-маркеров остеогенеза, а также в метаболическом статусе клеток на образцах скаффолдов с гомогенной и гетерогенной архитектурой.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 19-75-10008 а также в рамках программы стратегического развития ННГУ им. Н.И.Лобачевского «Приоритет-2030».

ВЛИЯНИЕ ЛЕСОРАСТИТЕЛЬНЫХ УСЛОВИЙ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЫЖИХ ЛЕСНЫХ МУРАВЬЕВ (*FORMICA S. STR.*) В СРЕДНЕМ И НИЖНЕМ ПОВОЛЖЬЕ

А. А. Козлова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
akatoe-nn@yandex.ru

Рыжие лесные муравьи (*Formica s. str.*) являются типичными обитателями лесных, реже лесостепных ландшафтов средней полосы России. Заселяя лесные сообщества, они образуют колонии и комплексы муравейников разного масштаба, что определяется ландшафтными, лесорастительными, почвенными условиями на занятой ими территории. В настоящей работе рассматривается связь крупных комплексов (>70 муравейников) рыжих лесных муравьев с лесорастительными районами Среднего и Нижнего Поволжья.

В качестве материалов исследования использовались результаты полевых учетов 2007–2020 гг. на территории Среднего Поволжья (Нижегородская и Самарская области, республика Татарстан, республика Чувашия), охватывающего границы зон южной тайги и смешанных лесов, лиственные леса и лесостепи, и Нижнего Поволжья (Саратовская, Волгоградская области), изучаемые территории которых можно отнести к лесостепной и степной зонам. Полевыми учетами затронуты 103 поселения рыжих лесных муравьев в 47 локалитетах, среди них крупные комплексы обнаружены в 23 точках, малые поселения (мелкие комплексы и колонии) – в 80 точках.

Для выявления зависимости образования комплексов от лесорастительных условий на базе платформы ArcGIS Online была построена карта, содержащая слой с данными по каждому поселению. При создании карты плотности поселений (количество муравейников на км²) было выявлено несколько районов их повышенной концентрации (Арзамасский, Краснобаковский, Воскресенский районы Нижегородской области, округ г. Тольятти Самарской области), в остальных районах на карте отображены более разрозненные поселения.

Для оценки случайности или закономерности такого характера распределения популяций муравьев была проведена статистическая обработка базы данных в программе StatTech методом подсчета коэффициента статистической значимости p между минимальным и максимальным количеством крупных комплексов муравейников в пределах лесного или лесостепного фитоценоза определенного типа. В результате была выявлена достоверная связь между соотношением крупных и мелких комплексов *Formica s. str.* и типом лесообразующей породы, а именно в хвойных и мягколиственных лесах в пределах одной природной зоны крупных комплексов больше ($p = 0,008$). Однако зависимость соотношения крупных и мелких комплексов от конкретной природной зоны (рассмотрены южнотаежные, смешанно-лесные, лесостепные и степные районы) выявить не удалось ($p = 0,239$).

Такие результаты могут объясняться неоднородным видовым составом рыжих лесных муравьев в разных локалитетах. Известно, что *F. aquilonia* и *F. polyctena* склонны формировать крупные, зачастую смешанные поселения, в то время как муравейники *F. pratensis* и *F. truncorum*, предпочитающих открытые пространства, представлены более разрозненно, в меньшем количестве и более характерны для регионов Нижнего Поволжья.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю В. А. Зряину за предоставленные материалы и консультации в ходе работы.

ВЛИЯНИЕ РАСТВОРОВ ЛИГНОСУЛЬФОНАТОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА В КУЛЬТУРЕ

Н. С. Козлова, М. В. Улитко, Т. Н. Луговицкая

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, 620000, Екатеринбург, ул. Ленина, 21; *nata.kozlova.99@mail.ru*

В настоящее время глобальный рост экологических проблем и истощение природных ресурсов приводят к тому, что усиливается интерес к использованию полимеров природного происхождения. Одним из таких полимеров является сульфитный лигнин – побочный продукт целлюлозно-бумажной промышленности. Сульфитный лигнин или лигносульфонаты (ЛС), как производные природного лигнина, обладают рядом биологических свойств, которые позволяют использовать их в клеточной инженерии, биотехнологии и медицине. Цель работы заключается в исследовании влияния растворов ЛС на функциональное состояние дермальных фибробластов человека в культуре.

В работе использовали ряд ЛС, различающихся молекулярно-массовым распределением (M_w) и элементным составом: ЛС№1 (Соликамский ЦБК, M_w 9260), ЛС№2 (Норвежский ЦБК, M_w 46300), ЛС№3 (Котласский ЦБК, M_w 32600) и ЛС№4 (лигносульфоная кислота, полученная катионообменной сорбцией из ЛС№2) и культуру дермальных фибробластов. Для культивирования фибробластов применяли ростовую среду DMEM (Sigma), дополненную 10% FBS (Nuclone) и 1% антибиотиков. Использовали растворы ЛС с концентрацией $C_{ЛС} = 0,1\%$ без разведения и в разведении 1:100 - 1:10000. Фибробласты рассаживали в 96-луночные планшеты в концентрации 2×10^5 кл/мл. Через 24 часа в лунки с фибробластами вносили аликвотное количество растворов ЛС. В контрольные образцы добавляли питательную среду без ЛС. Клетки инкубировали в CO_2 инкубаторе при $37^\circ C$ и 95 % влажности. Изменение функционального состояния клеток оценивали через 48 часов по двум показателям: снижению активности митохондриальных дегидрогеназ в МТТ-тесте и изменению эндоцитоза нейтрального красного, коррелирующего с активностью лизосом.

Исследования показали, что низкие концентрации раствора ЛС 0,0001–0,001 % не оказывают влияния на метаболическую активность клеток. С помощью МТТ-анализа установлено, что 0,01 % раствор ЛС № 1 вызывает снижение митохондриальной активности на $12,23 \pm 2,3\%$ (слабое цитотоксическое действие), раствор ЛС№ 4 – $21,28 \pm 4,56\%$ (умеренное цитотоксическое действие), а раствор ЛС№ 3 – $37,94 \pm 7,09\%$ (значительное цитотоксическое действие). Раствор ЛС№ 2 оказал умеренное цитотоксическое влияние на фибробласты только в при $C_{ЛС} = 0,1\%$, снизив активность митохондрий на $29,20 \pm 3,27\%$. Наиболее сильное угнетающее влияние на митохондриальные функции фибробластов оказал 0,1 % раствор ЛС№ 4, его цитотоксичность составила $51,96 \pm 4,22\%$. Тест с использованием нейтрального красного, основанный на проницаемости красителя через мембрану лизосом, выявил, что достоверного нарушения лизосомальной функции фибробластов при воздействии ЛС не происходит.

Полученный результат показывает, что действие всех растворов лигносульфоната связано с ингибированием митохондриальных ферментов дыхательной цепи, в том числе NADH-зависимых клеточных ферментов, участвующих в процессах окислительного фосфорилирования. Изменение активности ферментов приводит к снижению количества АТФ, что отражается на целостности клеточных мембран и приводит к нарушению их избирательной проницаемости. Поглощительная функция мембраны лизосом при этом не нарушается.

ТРАНСФОРМАЦИЯ ЗООПЛАНКТОННЫХ СООБЩЕСТВ ПРИ ПРОХОЖДЕНИИ ЧЕРЕЗ НИЖЕГОРОДСКИЙ ГИДРОУЗЕЛ

А. А. Колесников, В. С. Жихарев, Г. В. Шурганова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kolesnikov897@gmail.com

Рачковый зоопланктон – важнейший компонент пищевых сетей в экосистеме водоема. В современном поиске причин и механизмов динамики зоопланктона основное внимание уделяется рождаемости и скорости роста, тогда как смертность изучается сравнительно мало. Знание величин естественной смертности необходимо для построения динамических математических моделей – основного инструмента прогнозирования и управления состоянием водных экосистем. Особого внимания заслуживает изучение смертности зоопланктона, не связанной с хищничеством в гидробиоценозах выше и ниже Нижегородского гидроузла, поскольку для прогноза изменения численности популяций зоопланктона смертность представляется столь же важным параметром, как и рождаемость. Целью работы был анализ изменения численности и биомассы зоопланктона выше и ниже Нижегородского гидроузла, а также оценка на данных акваториях доли мертвых особей рачкового зоопланктона в общей численности и биомассе.

Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, отобранные в период весна-лето-осень 2021 г. На каждой акватории выше и ниже Нижегородского гидроузла отбиралось по 5 проб зоопланктона. В ходе исследования в зоопланктоне Горьковского водохранилища было обнаружено 22 вида, из них 9 принадлежали коловраткам (*Rotifera*), 9 – ветвистоусым ракообразным (*Cladocera*) и 4 – веслоногим ракообразным (*Copepoda*). Максимальные значения численности и биомассы зоопланктона были зафиксированы в июле на акватории выше Нижегородского гидроузла и составляли $281,0 \pm 61,9$ тыс. экз./м³ и $10,7 \pm 2,4$ г/м³ соответственно. Минимальные значения численности и биомассы зоопланктона были отмечены в сентябре также на этом участке и составили $8,9 \pm 1,5$ тыс. экз./м³ и $0,1 \pm 0,0$ г/м³ соответственно. Такие существенные различия связаны с сезонной сукцессией. Доминирующий комплекс видов зоопланктона исследованных акваторий состоял из четырех видов (*Daphnia cucullata*, *Bosmina longirostris*, *Chydorus sphaericus* и *Mesocyclops leucarti*), науплиальных и копеподитных стадий веслоногих ракообразных.

Доля мертвых особей в общей численности зоопланктона была статистически значимо больше в мае, июле и сентябре 2021 г. на акватории водохранилища ниже Нижегородского гидроузла. Максимальное увеличение доли мертвых особей зафиксировано в мае и сентябре (более чем в 2 раза). Максимальные значения долей биомассы мертвых особей в общей биомассе зоопланктона также были зафиксированы в мае и сентябре. Следует отметить, что доля мертвых особей в общей биомассе зоопланктона является достаточно высокой. Выше Нижегородского гидроузла она была 30–50%. Высокий показатель может быть связан с низким качеством пищи, из-за дефицита в ней незаменимых или частично незаменимых биохимических компонентов, что приводит к высокой смертности в популяциях планктонных ракообразных, которые являются основным компонентом лимнического сообщества выше и ниже Нижегородского гидроузла. При этом ниже Нижегородского гидроузла этот показатель увеличивается до 50–60%. Столь высокие значения связаны с тем, что при прохождении водных масс через Нижегородский гидроузел происходит гибель крупных лимнических фильтраторов и хищников (*Daphnia galeata* и *Leptodora kindtii*).

Таким образом, наблюдается трансформация сообществ зоопланктона, которая носит антропогенный характер. Наши исследования показывают, что в результате прохождения водных масс через Нижегородский гидроузел происходит обеднение лимнического сообщества и увеличение доли мертвых особей в сообществе зоопланктона участка ниже гидроузла. Гибель зоопланктона происходит из-за гидромеханического воздействия, перепада давления и кавитации.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЛОНГИДАЗА® НА РАЗРУШЕНИЕ МОНОВИДОВЫХ И ГРИБКОВО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК *CANDIDA ALBICANS*

А. И. Колесникова, А. Э. Гатина, Е. Ю. Трizza, Д. Р. Байдамшина, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
kolesnikova.ai337@gmail.com

Candida albicans – дрожжеподобный гриб, вызывающий различные заболевания, часто связанные с образованием биопленок, защищающих клетки от иммунной системы и противогрибковых препаратов. К настоящему времени предложено несколько стратегий воздействия на моно- и полимикробные биопленки. Среди них - ферментативный гидролиз матрикса биопленки. Разрушение матрикса облегчает проникновение противомикробных препаратов в клетки и снижает адгезию. Ранее было показано, что препарат Лонгидаза®, представляющий собой гиалуронидазу, слитую с сополимером N-оксида, 1,4-этиленпиперазина и (N-карбоксиметил)-1,4-этиленпиперазиний бромида, способен разрушать моно- и поливидовые бактериальные биопленки и повышать эффективность антибактериальной терапии.

Нами была исследована способность Лонгидазы® разрушать *in vitro* биопленки *S. albicans*. Было показано, что обработка Лонгидазой® в концентрации 750 МЕ приводит к снижению биомассы биопленки на 30%.

Известно, что *S. albicans* может образовывать смешанную грибково-бактериальную биопленку, которая проявляет более высокую устойчивость к различным вариантам лечения. Смешанные сообщества бактерий *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* с *S. albicans* были обработаны Лонгидазой® и оценена степень снижения остаточной биопленки. Внесение максимальной концентрации препарата приводило к снижению биомассы консорциума *S. albicans* - *P. aeruginosa* на 50%. В то же время использование Лонгидазы® в концентрации 750 МЕ в отношении сообществ *S. albicans* - *E. coli* и *S. albicans* - *K. pneumonia* лишь на 20-30%. Тем не менее, данные окрашивания CongoRed ясно показали, что обработка Лонгидазой® снижает биомассу матрикса всех смешанных культур дозозависимым образом.

Структуры необработанных и обработанных Лонгидазой® биопленок были проанализированы с помощью сканирующей электронной микроскопии. Видимое уменьшение биопленки наблюдалось для сообществ *S. albicans* - *S. aureus* и *S. albicans* - *P. aeruginosa*.

Таким образом, препарат Лонгидаза® способен разрушать грибковые и грибково-бактериальные биопленки *S. albicans*, что может способствовать повышению проницаемости для противогрибковых и антибактериальных препаратов и тем самым приводить к улучшению терапии инфекций, ассоциированных с формированием биопленок этими микроорганизмами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-04-00247).

ВЛИЯНИЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ МАГНИТНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА ПРОЦЕСС КОНЦЕНТРАЦИИ ВНИМАНИЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЙ КОГНИТИВНОЙ ЗАДАЧИ

А. Т. Колчина, Н. А. Григорьев, А. О. Савосенков, А. М. Удоротина, С. Ю. Гордлеева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

kolchina.a.t@mail.ru

Изучение процессов, лежащих в основе поддержания внимания, занимает нейрофизиологов десятилетиями. Однако до сих пор механизмы и локализация этих процессов остаются до конца не прояснёнными. Тем не менее, дисфункции, связанные с нарушениями внимания, встречаются по крайней мере у каждого из 20 детей, что обуславливает важность изучения данной тематики и разработки новых методов терапии подобных нарушений. Для изучения процессов внимания может использоваться исследование электрической активности головного мозга человека во время выполнения длительной задачи, в частности - классификации неоднозначных изображений. Повлиять же на электрическую активность коры головного мозга можно при помощи транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС), что даёт возможность разработать новые методы терапии нарушений внимания. Целью работы являлось изучение возбуждающей ритмической транскраниальной магнитной стимуляции (рТМС) на зону коры головного мозга, отвечающую за классификацию неоднозначных изображений - кубов Неккера, - в процессе длительной когнитивной задачи.

В исследовании приняло участие 60 здоровых испытуемых в возрасте от 18 до 25 лет, 30 мужчин и 30 женщин. Первоначально была набрана группа из 30 испытуемых, которая затем была расширена до 60. Эксперимент представлял собой трёхдневный протокол. В первый день регистрировалась активность коры головного мозга испытуемых при выполнении длительной когнитивной задачи – распознавания 400 кубов Неккера разной степени неоднозначности. Куб Неккера представляет собой изображение трёхмерного куба, которое, в зависимости от того, на какой части изображения концентрируется смотрящий, может восприниматься как лево- либо правонаправленное (по направлению передней грани). Изменяя интенсивность отрисовки рёбер куба, можно добиться разных степеней неоднозначности изображения. По данным первого дня определялась зона коры, отвечающая за обработку неоднозначных изображений. Второй и третий день были разнесены по времени относительно первого дня и друг друга более чем на 4 недели для снижения эффекта обучения. Для прохождения второго дня группа была разделена на подгруппу с реальной и плацебо-стимуляцией. Во второй день производилась стимуляция ранее определённой зоны рТМС с помощью катушки в форме восьмёрки у группы с реальной стимуляцией. Третий день происходил по протоколу первого дня и служил для определения влияния эффекта обучения на успешность выполнения испытуемыми задачи.

В результате предварительной обработки данных, полученных на группе из 30 испытуемых, было показано, что возбуждающая ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция достоверно увеличивает скорость распознавания изображений испытуемыми по сравнению с таковой у испытуемых контрольной группы.

Полученные результаты в будущем могут быть использованы для разработки новых методов терапии дисфункций внимания.

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ НОВЫХ ФОСФОРЕСЦЕНТНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ИРИДИЯ В КАЧЕСТВЕ СЕНСОРОВ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА *IN VITRO*

А. Д. Комарова^{1,2}, М. М. Лукина², Л. Н. Бочкарев³, И. С. Критченков⁴, М. В. Ширманова²

¹Университет Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, просп. Гагарина, 23;
komarova.anastasii@gmail.com

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

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

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9

Современным не инвазивным оптическим методом оценки содержания кислорода в клетках и тканях является фосфоресцентный имиджинг с временным разрешением (Phosphorescence lifetime imaging, PLIM). Метод PLIM основан на измерении времени жизни фосфоресценции кислород-чувствительных сенсоров, после их введения и распределения в биологических тканях. Актуальной задачей является синтез новых фосфоресцентных сенсоров, обладающих высокой степенью кислород-зависимого тушения фосфоресценции, способных эффективно накапливаться в клетках и тканях и не имеющих выраженной токсичности.

Целью работы являлось биологическое тестирование новых фосфоресцентных комплексов содержащих циклометаллированные комплексы иридия (III), в качестве сенсоров молекулярного кислорода в опухолевых клетках *in vitro*.

Объектом исследования являлись новые водорастворимые комплексы на основе Ir(III): ISK3 (СПбГУ) и P6 (ИМХ РАН). Цитотоксичность комплексов оценивали методом МТТ-теста. *In vitro* исследования осуществляли на клеточной линии СТ26 (колоректальный рак мыши). Исследование динамики накопления комплексов в опухолевых клетках и субклеточного распределения проводили с помощью лазерного сканирующего микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Германия), $\lambda_{ex} = 405$ нм, $\lambda_{em} = 500–650$ нм (для ISK3) и $\lambda_{em} = 550–715$ нм (для P6). Оценка чувствительности комплексов к кислороду в условиях гипоксии и нормоксии осуществлялась методом PLIM на LSM 880 при двухфотонном возбуждении, $\lambda_{ex} = 780$ нм, $\lambda_{em} = 542–715$ нм *in vitro*.

По данным МТТ-теста выявлены нетоксичные диапазоны концентраций исследуемых комплексов: для комплекса ISK3 диапазон нетоксичных концентраций составил 150 мкМ и менее (процент жизнеспособных клеток $94,7 \pm 1,5\%$), для P6 – 25 мкМ и менее ($90,6 \pm 2,4\%$). Установлено, что комплексы проникают и накапливаются в живых опухолевых клетках: комплекс P6 проникает в клетки после 10 минут инкубации, ISK3 после 24 часов. Анализ внутриклеточной локализации при окрашивании клеток органелл-специфическими красителями показал, что комплексы не проникают в ядра клеток и накапливаются в цитоплазме. Методом PLIM для комплекса P6 были зафиксированы вариации времен жизни фосфоресценции в условиях гипоксии и нормоксии. Время жизни фосфоресценции комплекса P6 *in vitro* в условиях гипоксии составило 2,2 мкс и уменьшилось в 1,8 раз в условиях нормоксии и составило 1,2 мкс, что свидетельствует о высокой чувствительности комплекса к кислороду *in vitro*.

По результатам исследования можно заключить, что исследуемые комплексы Ir(III) перспективны для дальнейших применений в качестве сенсоров кислорода *in vivo* методом PLIM.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 18-73-10021 (ISK3) и РФФИ, проект № 20-03-00102 А (P6).

ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ РАЗРАСТАНИЯ КОЛОНИЙ ГРИБА ЭНДОФИТА ВЕРЕСКОВЫХ В ПРИСУТСТВИИ ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩЕГО КОМПОНЕНТА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

У. А. Кононова, И. В. Стручкова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
usyakononova@gmail.com

Вересковые растения существуют в обязательном симбиозе с микоризообразующими и эндодитными грибами, которые можно подселать искусственно. Одним из таких организмов является темный септированный эндодит *Phialocephala fortinii*. В лабораторных условиях данный гриб не спороносит и растет очень медленно, а для его биотехнологического применения необходимо ускоренное получение большой площади маточных колоний. В связи с этим актуальна разработка дешевых питательных сред, ускоряющих разрастание данного гриба. Вересковые растения, такие как черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus*), образуют значительные количества флавоноидов – соединений, некоторые из которых способны ускорять рост микоризообразующих грибов. Однако вопрос об их влиянии на рост темных септированных эндодитов не исследовался. Целью работы являлось изучение влияния флавоноидов листьев черники на рост колоний изолята *P. fortinii*, выделенного из корней черники обыкновенной.

Влияние флавоноидов на рост гриба оценивали, сравнивая диаметр одновозрастных колоний (в мм), выращиваемых на питательных средах с конечной концентрацией флавоноидов 10 мкМ и без них. Эксперимент проводили в 5 биологических повторностях на каждом варианте среды. В состав питательной среды Чапека-Докса флавоноиды вносили в виде порошка сухих листьев черники (среда «Л») или экстракта фенольных соединений, компонентом которого являлись флавоноиды (среда «Э»). Экстрагирование фенольных соединений из листьев черники осуществляли с помощью 80% этанола. Определение суммы флавоноидов в экстракте фенольных соединений осуществляли спектрофотометрически по реакции с $AlCl_3$ и пересчитывали на рутин. Содержание флавоноидов в порошке сухих листьев черники определяли путем пересчета на мг/г сухой массы листа. Содержание углерода листьев, вносимого в питательную среду, учитывали на основе его определения согласно рекомендациям Х. К. Аликова. На контрольные и опытные среды гриб высаживали “пробкой” (фрагментом питательной среды с растущим на ней мицелием, $D = 8$ мм), полученной из краевой зоны трехнедельной культуры на среде Чапека-Докса без добавления флавоноидов, и культивировали в темноте при температуре $20 \pm 2^\circ C$.

Установлено, что культивирование *P. fortinii* на среде «Л» ускоряло, а на среде «Э» – замедляло разрастание колоний: их диаметр, соответственно, увеличивался на 7–11% и уменьшался на 7–12% по сравнению с контрольными колониями того же возраста. В случае среды «Л» максимальный ростостимулирующий эффект наблюдался на 10 сутки (11% относительно контроля).

Таким образом, внесение сухих листьев черники в количестве, эквивалентном концентрации флавоноидов 10 мкМ в питательной среде, способно ускорить разрастание колоний *P. fortinii*, и, тем самым, можно быстрее получить материал для инфицирования растений. Замедление разрастания колоний на питательной среде с флавоноидсодержащим экстрактом указывает на невозможность его применения в указанных целях, а также на наличие в листьях черники фенольных соединений, ингибирующих разрастание *P. fortinii*.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ В НОРМЕ И ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

А. И. Корнилова¹, А. П. Домнина², А. Н. Шатрова², Т. С. Горячая², М. А. Петросян^{3,4}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9; *an.kornilova@mail.ru*

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Тихорецкий просп., 4

³НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

⁴СПб НИИФ Минздрава России, 191036, Санкт-Петербург, Лиговский просп., 2–4

В настоящее время стволовые клетки (СК) выделены из различных органов и тканей человека и в 2004 году они были обнаружены в эндометрии. СК, полученные из эндометрия, обладают свойствами мезенхимных стволовых клеток (МСК), рассматриваются как модель для изучения и лечения гинекологических заболеваний, их персонализированной терапии, и являются перспективным источником для регенеративной медицины. Международным сообществом клеточной терапии (ISCT) были разработаны и утверждены критерии по определению мультипотентных МСК человека вне зависимости от источника происхождения. В числе них – позитивная экспрессия ($\geq 95\%$) маркеров мезенхимного ряда (CD44, CD73, CD90, CD105) и отсутствие экспрессии ($\leq 2\%$) маркеров гемопоэтического ряда (CD34, CD45, HLA-DR). Данные о верификации экспрессии поверхностных маркеров в эндометриальных клеточных линиях (ЭКЛ), полученных от пациентов с различными гинекологическими заболеваниями, не многочисленны.

Цель исследования – определить иммунофенотипический профиль ЭКЛ, полученных от гинекологически здоровых доноров и пациентов с эндометриозом.

Исследование проводили на клеточных линиях, выделенных из биоптатов эндометрия пациенток, проходящих обследование в отделении оперативной гинекологии НИИ АГиР им. Д.О. Отта. Среди пациентов были 4 гинекологически здоровых донора и 4 пациента с эндометриозом. ЭКЛ культивировали в стандартных условиях при $+37^\circ\text{C}$ и $5\% \text{CO}_2$ в среде DMEM/F₁₂ (БиолоТ, Россия), содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) (HyClone, США) и 1% смеси антибиотиков пенициллина и стрептомицина (БиолоТ, Россия) до 3-5 пассажа. Затем клетки снимали с поверхности чашки $0,25\%$ раствором трипсина и EDTA (1:3) (Sigma, США), в количестве 1 млн/мл ресуспензировали в растворе PBS, содержащем 5% FBS. Далее делили на пробы по 10 мкл, добавляли к каждой из них по 2 мкл антител и инкубировали при $+4^\circ\text{C}$ в течение 30 мин. Использовали моноклональные антитела против CD34, CD44, CD45, CD73, CD90, CD105, HLA-DR (Beckman Coulter, США).

Имунофенотипический анализ проводили с помощью проточного цитофлуориметра Epics XL (Beckman Coulter, США), используя моноклональные антитела, меченные различными флюорохромами – FITC и PE. Для оценки уровня экспрессии маркеров в анализируемых ЭКЛ использовали критерий Фридмана с последующими множественными сравнениями по критерию Ньюмена-Кейлса.

Цитометрическое фенотипирование показало, что ЭКЛ демонстрировали высокую экспрессию маркеров мезенхимного ряда и низкую экспрессию маркеров гемопоэтического ряда, полученные как от гинекологически здоровых доноров: CD44⁺ – $99,95\%$, CD73⁺ – $99,77\%$, CD90⁺ – $99,93\%$, CD105⁺ – $99,78\%$, CD34⁻ – $0,96\%$, CD45⁻ – $0,57\%$, HLA-DR⁻ – $0,41\%$, так и от пациентов с эндометриозом: CD44⁺ – $99,92\%$, CD73⁺ – $99,38\%$, CD90⁺ – $97,5\%$, CD105⁺ – $98,16\%$, CD34⁻ – $1,2\%$, CD45⁻ – $0,92\%$, HLA-DR⁻ – $1,05\%$.

Полученные данные свидетельствуют, что, вне зависимости от наличия или отсутствия эндометриоза, ЭКЛ, выделенные из образцов эндометрия матки, представляют собой преимущественно популяцию мультипотентных МСК.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00449.

ВЫЯВЛЕНИЕ КЛЮЧЕВЫХ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ БИОМАРКЕРОВ РАКА ГОЛОВНОГО МОЗГА

Д. О. Корсакова¹, О. С. Вершинина¹, В. Д. Турубанова¹, М. В. Ведунова¹, Д. В. Крысько^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

do_0910@mail.ru

²Университет Гента, Лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT), факультет анатомии и реабилитации человека, Бельгия

Несмотря на достижения современной медицины, во всем мире наблюдается неуклонный рост онкологических заболеваний. Одной из наиболее летальных злокачественных опухолей головного мозга является глиобластома. Из-за ее высоко агрессивного поведения она обладает худшим прогнозом и показателем пятилетней выживаемости ниже 5%.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось выявление биомаркеров, ассоциированных с выживаемостью пациентов с глиобластомой.

Для достижения поставленной цели был проведен анализ транскриптомных данных пациентов проекта LGG (Brain Low Grade Glioma) из открытой базы данных TCGA (The Cancer Genome Atlas). Были проанализированы данные 505 пациентов с первичной опухолью (125 пациентов умерло, 380 - живы на момент последнего наблюдения). Анализ дифференциальной экспрессии генов проводился с помощью алгоритма DESeq2. Статистически значимым считалось изменение экспрессии генов в 2 раза и более ($|\text{FoldChange}| \geq 2$) при значении уровня достоверности (скорректированное р-значение с поправкой Бенджамини-Хохберга) менее 0.05. Также в качестве критерия отбора значимых генов было задано условие на среднее значение экспрессии гена ($\text{baseMean} > 50$).

В результате анализа были получены 273 гена, значимо изменивших свою экспрессию у умерших больных, по сравнению с живыми пациентами. Из них - 258 увеличили свою активность. Для результирующего списка генов был применен анализ функциональной аннотации молекулярных путей обогащения, который был выполнен с использованием инструментов DAVID Bioinformatics Resources 6.8. В качестве категории аннотации для молекулярных путей был выбран KEGG_PATHWAYS. Так были выявлены следующие пути аннотирования: Proteoglycans in cancer (Benjamini = 4,6E-6), ECM-receptor interaction (Benjamini = 4,6E-6), Protein digestion and absorption (Benjamini = 1,6E-5), Complement and coagulation cascades (Benjamini = 1,7E-4). Далее с помощью анализа метагенов (кластеров генов, демонстрирующих сильную коэкспрессию), ответственных за дифференцировку по основным путям иммунокомпетентных Т клеток (Th1, Th17, CTL, Treg), были выделены группы генов, ассоциированные с каждым из них. Результирующий метаген, связанный с определенным типом Т клеток, выбирался как кластер, сосредоточенный на специфических известных маркерах Т клеток: для Th1 - ген IFNG, Th17 - RORC/IL17A, CTL - CD8B, Treg - гены CD3G/CD2/CD3D. Оценено прогностическое влияние дифференциальной экспрессии каждого метагена на общую выживаемость (ОВ) пациентов в когорте TCGA-LGG. В каждом из четырех случаев было рассчитано процентное изменение средней выживаемости (%ΔMS) между группами с высоким и низким уровнем экспрессии метагена. Высокая экспрессия метагенов Th1, CTL и Treg связана со сниженной ОВ, о чем свидетельствуют отрицательные %ΔMS, равные -19%, -4%, -41%, соответственно. Однако высокая экспрессия метагена, связанного с Th17, коррелировала с продолжительной ОВ (%ΔMS = +23%).

Таким образом в результате работы были выявлены 273 гена, имеющие прогностическую значимость при глиобластоме, и определена взаимосвязь между высокой экспрессией метагена, ассоциированного с Th17, со значительной положительной ОВ (%ΔMS = +23%).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 18-15-00279, <https://rscf.ru/project/18-15-00279/>.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ ЧАСТОТ ШУМАНОВСКОГО ДИАПАЗОНА НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СПЕКТР СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА И ПШЕНИЦЫ

В. М. Кошеева, Ю. В. Ракова, Е. А. Кальясова, Ю. В. Сеницына, Н. С. Мишенская

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
valkoshch128@gmail.com

Наличие у Земли геомагнитного поля, а также его флуктуации являются одним из физических факторов, действующих на живые организмы. Кроме магнитных бурь, вызванных солнечной активностью, в ионосфере Земли существует и явление резонанса Шумана, под которым понимают совпадение электромагнитных волн определенных мод (с частотами 7,8; 14,1; 20,3 Гц и т.д.) с собственными фазами и увеличение времени существования их в атмосфере. Накопленные факты свидетельствуют о том, что магнитные поля способны вызывать биологические эффекты, поэтому исследование их влияния становится актуальной задачей современности.

Целью данного исследования было изучение влияния длительного воздействия магнитных полей с частотами Шумановского диапазона на активность ферментов антиоксидантной системы и изоферментный спектр супероксиддисмутазы (СОД) растений гороха и пшеницы.

Объектами исследования являлись 18-дневные растения гороха посевного (*Pisum sativum*), сорт Альбумен, пшеницы мягкой яровой (*Triticum aestivum*), сорт Злата. Опытные растения культивировались в установке с магнитным полем (с частотами 7,8 Гц; 14,3 Гц; 20,8 Гц; магнитная индукция 18 мкТл). Контрольная группа помещалась на аналогичную установку с подсветкой, но без магнитного поля. После окончания экспозиции определяли активность антиоксидантных ферментов, а именно каталазы, супероксиддисмутазы и изменение ее изоферментного спектра.

Было обнаружено, что при длительном воздействии слабых магнитных полей активность каталазы в основном не менялась, но увеличивалась в растениях пшеницы при 14,3 Гц, а в растениях гороха снижалась при 20,8 Гц. Изменения активности СОД не наблюдалось ни в одном из объектов исследования. Изоферментный состав СОД не изменялся в растениях пшеницы, однако на электрофореграмме, полученной из растений гороха наблюдалось появление двух новых быстро идущих неидентифицированных минорных фракций с СОД-активностью при обработке магнитными полями с частотами 14,3 и 20,8 Гц, при этом изменялось соотношение изоформ по сравнению с контролем.

Таким образом, слабые низкочастотные переменные магнитные поля Шумановского диапазона могут оказывать влияние на ферменты антиоксидантной системы, вызывая увеличение и снижение их активности, а также изменение состава изоформ при разных частотах электромагнитных излучений.

Работа выполнена при финансировании Министерством науки и высшего образования (соглашение № 075-15-2019-1892).

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ПАТТЕРНОВ КОГНИТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ИНДИВИДУУМОВ

Кривоносов М. И., Кондакова Е. В., Ведунова М. В., Иванченко М. В.

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
krivonosov@itmm.unn.ru

Когнитивные способности играют главную роль для функциональной независимости человека при его старении. Когнитивный статус индивидуума определяет возможность независимого ведения хозяйства, управления финансами, правильного приема лекарств, а также безопасного управления транспортным средством. Кроме того, нарушение когнитивных функций снижает эффективность общения, включая обработку и интеграцию сенсорной информации, адекватную реакцию на других людей. В связи с тем, что когнитивные способности снижаются с возрастом, важно исследовать, какие типы когнитивных изменений являются частью нормального старения, а какие типы изменений могут свидетельствовать о начале нейродегенерации.

В данном исследовании оценка когнитивного статуса человека проводилась с помощью выполнения индивидуумом тестов, направленных на оценку скорости реакции и принятия решения, оценку доли ошибочных ответов, а также оценку восприятия оттенков цветов. Взаимосвязи со старением результатов тестов были показаны ранее во многих исследованиях, однако индивидуальные особенности отклонений в когнитивном поведении не были исследованы. Применяя разработанные когнитивные часы на основе как хронологического возраста, так и биологического, в работе исследуются взаимосвязи ускорения когнитивного возраста с отклонениями в поведенческих паттернах.

Проведенный анализ выявил наличие 7 паттернов поведения в разных возрастах, ассоциированных с акселерацией старения. Также была показана статистическая взаимосвязь рассчитанного когнитивного возраста и соответствующей поведенческой группы. Анализ был проведен с использованием алгоритма кластеризации k-средних. Найденные группы, имеющие замедленное старение по когнитивным часам, показывают более лучшие результаты тестов относительно участников такого же возраста. Так, скорость реакции, скорость детектирования объекта и скорость сенсомоторной реакции выше у участников, демонстрирующих замедленное старение, и ниже у участников с ускоренным старением. Результаты тестов кампиметрии выявили два смешанных поведения, характеризующиеся как больше затраченного времени – точнее различимость оттенков, меньше затраченного времени – хуже различимость оттенков. Тесты на арифметику и зеркальные буквы показали схожее изменение скорости принятия решения и скорости моторной реакции практически во всех группах. Исключением стали 2 группы: участники первой из них показали меньшее время принятия решения только при прохождении арифметических тестов, однако при этом они обладают более высоким уровнем ошибок; участники другой группы наоборот продемонстрировали более длительное время принятия решения в определении корректности арифметического выражения при более высоком уровне ошибок. Хотя общий уровень ошибок составляет не более 10% для каждой группы, увеличение числа ошибок с 5% до 10% в отдельных группах приводит к увеличению когнитивного возраста на 2 года в среднем. Снижение скорости реакции показывает ускорение когнитивного возраста на 4,5 года при хорошем различении оттенков и на 7 лет при большем количестве кликов для различения объекта.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках выполнения проекта «Надежный и логически прозрачный искусственный интеллект: технология, верификация и применение при социально-значимых и инфекционных заболеваниях» (договор № 075-15-2020-808).

ВЕГЕТАТИВНЫЕ ОТОБРАЖЕНИЯ ЭФФЕКТОВ ПОГРУЖЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ВИРТУАЛЬНОЙ РЕАЛЬНОСТИ

И. И. Кропинова, Д. В. Кузнецов, С. А. Полевая

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
irina.kropi@mail.ru

Технологии виртуальной реальности (VR) приобретает все большее значение как ценный методический инструмент психологических исследований (Полевая С.А. и др., 2018). Значительное преимущество технологий VR заключается в возможности создания ярких, сложных, но при этом контролируемых, сред. Однако, способность VR воспроизводить контекстоспецифичные функциональные состояния и формировать «эффект погружения» ограничена ресурсами аудиовизуальной стимуляции. Актуальной задачей является возможность объективизации влияния VR на функциональное состояние и оценка эффективности погружения в виртуальный контент. В нашей работе в основу объективизации положена оценка рассогласований в функциональных состояниях при аналогичных реальных и виртуальных контекстах.

Для мониторинга функционального состояния (ФС) применена событийно-связанная телеметрии ритма сердца (ССТРС), позволяющей получать данные о динамике вегетативной регуляции (Полевая С.А. и др., 2019). Виртуальная среда создавалась с использованием системы HTC Vive Pro. Для оценки склонности к риску и готовности проявлять рискованное поведение, применялся опросник DOSPERT (Ветюгов В.В., и др., 2017). Статистическая обработка осуществлялась с помощью непараметрического критерия (U-критерий Манна Уитни).

Вегетативные отображения эффекта погружения получены в контексте реальных и виртуальных качелей. В исследовании приняли участие 16 испытуемых (6 женщин и 10 мужчин) возраста 20-30 лет. В контексте реального события зарегистрированы 2 вида режимов вегетативной регуляции: у 65% проявляются стрессиндуцированные изменения variability ритма сердца (группа «Стресс»); у 35% - variability ритма сердца соответствует вестибуло-вегетативному рефлексу (группа «ВВР»). Установлено, что вид реакции связан со склонностью к рискованному поведению: в группе ВВР значимо выше уровень готовности проявлять рискованное поведение в контекстах, связанных с отдыхом и развлечениями. В контексте виртуального события распределение по группам не воспроизводилось, признаки стресса или вестибуло-вегетативного рефлекса отсутствовали.

У большинства испытуемых вырос адаптационный потенциал и снизилась степень напряжения регуляторных систем.

Таким образом, оценка рассогласований в функциональных состояниях при аналогичных реальных и виртуальных контекстах на основе мониторинга динамики variability ритма сердца методом событийно-связанной телеметрии позволяет обеспечить объективизацию эффекта погружения в технологии виртуальной реальности.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ И FLIM ИМИДЖИНГ В ОЦЕНКЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

Д. П. Крылов^{1,2}, Д. С. Козлов^{1,2}, С. А. Родимова^{1,2}, В. В. Елагин², М. М. Карабут², Е. В. Загайнова^{1,2}, Д. С. Кузнецова^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dmitr.krilow2013@yandex.ru

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

Комплексная оценка структурно-функционального состояния печени необходима для планирования объема резекции с целью снижения риска развития синдрома недостаточного объема печени и послеоперационной летальности. Проведение стандартных предоперационных тестов не позволяет в полной мере оценить состояние печеночной ткани на клеточном уровне на ранних стадиях развития патологии. В связи с этим в настоящее время идёт поиск новых методов экспресс-оценки структурно-функционального состояния печени. Перспективным методом представляется мультифотонная микроскопия с возможностью регистрации времени жизни флуоресценции (FLIM) в сочетании с молекулярным анализом ранних маркеров индукции токсического повреждения. Цель работы – оценить структурно-функциональное состояние печени при токсическом повреждении методом FLIM в сочетании с анализом изменения относительного уровня экспрессии генов, ассоциированных с развитием патологии печени, на модели печеночных эксплантатов.

Исследование проводили на печеночных эксплантатах (тонкие срезы ткани печени, 400 мкм), которые получали с помощью вибрационного микротомы и помещали в культуральную среду. Для индукции токсического повреждения в культуральную среду с эксплантатами добавляли ацетаминофен в конечной концентрации 10мМ. Инкубация проводилась в течение 3 часов. Морфологический анализ осуществляли методом окраски эксплантатов гематоксилином и эозином и по Ван Гизону. Метаболический статус гепатоцитов в норме и при патологии анализировали методом FLIM на основе данных о времени жизни флуоресценции свободной и связанной форм НАД(Ф)Н (t1 и t2 (пс), соответственно) и их вкладов (a1 и a2 (%), соответственно). Оценку уровня экспрессии генов, ассоциированных с развитием токсического повреждения, проводили с помощью метода ПЦР в режиме реального времени.

Анализ метаболического статуса гепатоцитов показал, что времена жизни флуоресценции t1 и t2 НАД(Ф)Н в гепатоцитах после инкубации с ацетаминофеном снижаются по сравнению со значениями в контроле (эксплантаты без добавления токсина), что свидетельствует о снижении общей метаболической активности гепатоцитов, поврежденных после воздействия ацетаминофена. Кроме того, наблюдается резкое увеличение значений вклада a2 связанной формы НАД(Ф)Н в гепатоцитах после инкубации с ацетаминофеном через 24 ч культивирования (3 ч: 29,42±3,5% и 24 ч: 33,66±4,2%) по сравнению с контрольными значениями (3 ч: 27,26±2,5% и 24 ч: 25,54±4,3%). С применением метода ПЦР показана тенденция к увеличению уровня экспрессии генов, ассоциированных с развитием патологии печени, что так же указывает на развитие токсического повреждения печени.

Показано, что метод FLIM в сочетании с молекулярным анализом позволяет обнаружить ранние патологические изменения печени при развитии токсического повреждения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда №22-25-00098 (метаболический имиджинг, молекулярный анализ) и Гранта Президента Российской Федерации МК-1649.2021. 3 (морфологические исследования).

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИНКОВОГО И ПАЛЛАДИЕВОГО КОМПЛЕКСОВ КОНЬЮГАТА ХЛОРИНА E6 И ВАНДЕТАНИБА В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С КОМБИНИРОВАННЫМ ДЕЙСТВИЕМ

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

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

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является активно развивающимся методом лечения онкологических заболеваний. Перспективным подходом к повышению эффективности ФДТ при лечении солидных опухолей является разработка фотосенсибилизаторов (ФС) с комбинированным действием. Данная идея основывается на сочетании в одном агенте свойств ФС и таргетного препарата для достижения аддитивного или синергического эффекта проводимой терапии и преодоления резистентности опухоли к лечению.

Целью настоящей работы явилось исследование фотофизических и биологических свойств двух потенциальных агентов для ФДТ, представляющих собой комплексы конъюгата хлорина е6 и вандетаниба с различными металлами, а именно цинком и палладием. Хлорин е6 под действием света и в присутствии молекулярного кислорода запускает фотодинамические реакции в клетке-мишени. Вандетаниб представляет собой низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназной активности рецепторов ростовых факторов EGF и VEGF. Введение центрального атома металла в структуру макрокольца предполагает увеличение времени жизни триплетного состояния ФС и квантового выхода синглетного кислорода. В качестве соединения сравнения использовался коммерчески доступный препарат на основе хлорина е6 – фотодитазин (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия).

В ходе исследования фотофизических свойств были зарегистрированы спектры поглощения и флуоресценции, определен квантовый выход флуоресценции исследуемых конъюгатов. Исследование биологических свойств *in vitro* проводили на культурах клеток эпидермоидной карциномы человека А-431, обладающих повышенной экспрессией рецептора EGFR. Было проанализировано внутриклеточное накопление соединений методом конфокальной микроскопии, определена их цитотоксическая активность методом МТТ-теста. Для анализа фотодинамической активности культуру клеток облучали в дозе 20 Дж/см² на длине волны 670 нм.

Исследованные в работе соединения обладают интенсивным поглощением и флуоресценцией в красной области спектра. Квантовый выход флуоресценции конъюгатов не превышает 1%. Установлено, что конъюгаты накапливаются в клетках в течение 4 часов и распределяются во внутриклеточных мембранах. Продемонстрирована способность исследуемых соединений вызывать фотоиндуцированную гибель клеток. Значения концентраций полумаксимального ингибирования (IC₅₀) при световом воздействии находятся в субмикромольном диапазоне. При этом палладиевый комплекс конъюгата хлорина е6 и вандетаниба продемонстрировал большую цитотоксическую активность по сравнению с цинковым комплексом.

Полученные данные позволяют рассматривать исследованные производные хлорина е6 в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов.

Работа осуществлена в Научно-исследовательской лаборатории химии природных соединений и их синтетических аналогов созданной в рамках Госзадания Минобрнауки России при НОЦ «Техноплатформа 2035» (FSWR-2021-014) и в рамках Госзадания Минобрнауки России № 0729-2020-0061.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ ЛИПЫ МЕЛКОЛИСТНОЙ И БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ К ПОЛЛЮТАНТАМ ВЫХЛОПОВ АВТОТРАНСПОРТА

М. Д. Кузнецов, Е. А. Ерофеева, О. С. Лисицына

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
maxim2895@mail.ru

Автотранспорт является одним из основных источников загрязнения атмосферного воздуха городов. Береза повислая и липа мелколистная широко используются в озеленении придорожных территорий, а их показатели – в биоиндикации. Эти виды отличаются устойчивостью к некоторым газообразным поллютантам выхлопов. Однако сравнительный анализ адаптивных ответов у видов при автотранспортном загрязнении не проводился. Нами рассмотрена данная проблема с использованием биохимических показателей и сырой биомассы листьев.

В исследовании рассматривали градиент автотранспортного загрязнения на 6 загрязненных участках в придорожных зонах нагорных районов Нижнего Новгорода. В июле 2021 г. максимальный разовый выброс поллютантов выхлопов (оксиды углерода, серы, азота, формальдегид, бенз(а)пирен, углеводороды) был рассчитан в программе Автомагистраль на основе данных о потоке автотранспорта. Контрольный участок для липы располагался на территории лесопарка Щелоковский хутор, а для березы – в 20 км к северу от Н. Новгорода вблизи п. Киселиха. В июле 2021 г. было собрано по 30 листьев с каждого из 10 деревьев на каждом участке для определения биохимических показателей и 15 листьев с каждого дерева для оценки биомассы листьев. С помощью регрессионного анализа было установлено, что изменения изученных показателей зависели в большинстве случаев от уровня поллютантов и величины потока автотранспорта.

Результаты показали, что у липы фотосинтетический аппарат был устойчив к изученным уровням загрязнения (содержание хлорофиллов и каротиноидов не отличалось от контроля). Однако, перекисный гомеостаз нарушался, что выражалось в увеличении уровня продуктов липопероксидации в листьях на большинстве загрязненных участков относительно контроля. Кроме того, на 3 участках отмечалось снижение биомассы листьев, а на 1 участке увеличение содержания общего белка в листьях по сравнению с контролем, что может быть связано со значительной стимуляцией синтеза защитных белков. У березы на этих же загрязненных участках была выявлена стимуляция фотосинтетического аппарата (увеличение содержания хлорофилла *b* и снижение соотношения хлорофиллов *a/b* по сравнению с контролем). Перекисный гомеостаз листьев березы, в отличие от липы, был устойчив к изученным уровням загрязнения. Вместо типичного для сильного стресса увеличения интенсивности липопероксидации отмечалось снижение интенсивности этого процесса относительно нормы, что свидетельствует о высокой активности антиоксидантной защиты. Масса листьев березы, в отличие от липы, увеличивалась на трех наиболее загрязненных участках, что может быть обусловлено усыханием кроны и развитие побегов с более крупными листьями из спящих почек. Ранее нами было зафиксировано усыхание кроны берез на этих участках. Также у березы отмечалось снижение почти в 2 раза содержания общего белка в листьях при загрязнении относительно контроля, что указывает на существенное снижение биосинтеза белков.

Таким образом, нами было выявлено сложное разнонаправленное изменение изученных показателей у березы и липы при автотранспортном загрязнении. Это соответствует современной концепции гормезиса у растений, согласно которой умеренные стрессоры вызывают стимуляцию, а сильные стрессоры – ингибирование (нарушение) показателей растений. При этом при стимуляции одних признаков может отмечаться ингибирование других (явление горметического компромисса – *hormetic trade-off*). Это следует учитывать при использовании изученных показателей березы и липы в биоиндикации.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СТРЕССОВЫХ ФИТОГОРМОНОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛОКАЛЬНОГО РАЗДРАЖИТЕЛЯ С ПОМОЩЬЮ ИНГИБИТОРНОГО АНАЛИЗА

Д. В. Кузнецова, М. М. Ладейнова, В. А. Воденеев

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;
kuznetsova.dar0@gmail.com

Растения имеют сложную скоординированную систему генерации и передачи стрессовых сигналов, которая обеспечивает адекватный ответ на действие изменяющихся факторов внешней среды. По современным представлениям, переменный потенциал (ВП) – это электрический сигнал, который возникает в ответ на локальный повреждающий стимул, а генерация и распространение этого сигнала связаны со значительными изменениями концентраций ионов. Имеющиеся данные о механизме генерации ВП позволяют предположить, что изменение ионных концентраций при ВП может индуцировать изменение концентраций гормонов. Таким образом, для исследования механизмов изменения концентраций стрессовых фитогормонов необходимо провести ингибиторный анализ ион-транспортных систем, участвующих в генерации ВП.

Исследования выполнялись на растениях пшеницы (*Triticum aestivum*) в возрасте 15 – 19 дней. Генерацию ВП инициировали действием локального раздражителя, представляющего собой нагрев кончика листа. Регистрацию ВП проводили с использованием многоканальной макроэлектродной установки. Содержание фитогормонов определяли во фрагменте листа, удаленном от зоны воздействия. Для проведения анализа концентраций фитогормонов был использован метод высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Предварительно осуществляли пробоподготовку, которая включала фиксацию образцов в жидком азоте и гомогенизацию их в экстрагирующем растворе, далее проводилась процедура экстракции на ротаторе и центрифугирование с последующим отбором супернатанта. Полученные экстракты концентрировали путем выпаривания и фильтровали. Для ингибиторного анализа растения пшеницы подвергали вакуумной инфльтрации раствором 5 мМ LaCl_3 (блокатора кальциевых каналов) или 5 мМ Na_3VO_4 (ингибитора протонного насоса), для контрольной группы применяли раствор без ингибиторов.

Действие локального нагрева вызывает генерацию ВП и изменение содержания фитогормонов в растениях пшеницы. Максимальной концентрации после действия раздражителя такие стрессовые фитогормоны как жасмоновая кислота (ЖК) и абсцизовая кислота (АБК) достигают через 15 мин и 60 мин соответственно, салициловая кислота (СК) имеет максимум концентрации при 40 мин. Показано, что ингибирование кальциевых каналов оказывает влияние как на параметры электрического сигнала, так и на параметры гормонального ответа. Наблюдается значительное снижение амплитуды ВП при действии LaCl_3 по сравнению с контрольной группой. Происходит изменение сдвигов концентраций гормонов, вызванных действием локального раздражителя: LaCl_3 блокирует увеличение жасмонатов в точке 15 мин и СК в точке 60 мин. Ингибиторный анализ также показал, что амплитуда ВП при действии Na_3VO_4 значительно меньше амплитуды контрольной группы. Ингибирование протонной помпы увеличивает содержание АБК и жасмонатов как в покое, так и при раздражении.

Таким образом, ингибиторный анализ показал роль протонов и ионов кальция в вызванном ВП сдвиге концентраций исследуемых стрессовых гормонов при действии локального раздражителя, что может свидетельствовать о наличии взаимосвязи между электрическими и гормональными сигналами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-34-90179).

КАЛЬЦИЙ ЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ УСИЛЕНИЯ ЭНДОЦИТОЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИММУННОГО ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА

Е. А. Кузнецова¹, А. М. Петров^{2,3}

¹Казанский федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
eva.korshak@mail.ru

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

³Казанский институт биохимии и биофизики РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского 2/31

Усиленная экспрессия фермента холестерин-25-гидроксилазы макрофагами и дендритными клетками в процессе воспаления приводит к образованию 25-гидроксихолестерина (25-ГХ), роль которого изучена в иммунном ответе. Помимо этого, выявлена зависимость концентрации 25-ГХ в плазме крови от тяжести заболеваний, в частности, при нейродегенеративных патологиях. Тем не менее, на сегодняшний день, недостаточно информации о механизмах действия иммунного оксистерина в синаптической передаче.

Нами была показана способность 1 мкМ 25-гидроксихолестерина усиливать экзоцитоз синаптических везикул в нервно-мышечном синапсе диафрагмальной мышцы мыши. Этот эффект сопровождался повышением уровня внутриклеточного Ca^{2+} через активацию печеночных X-рецепторы (LXR) и инозитол-трифосфатные (ИТФ) рецепторов ЭПС. Однако влияние 25-ГХ на процессы эндоцитоза не были изучены.

Процессы компенсаторного эндоцитоза восстанавливают синаптические везикулы после экзоцитоза, от их скорости зависит способность синапса поддерживать нейротрансдукцию в течение продолжительной активности. Для исследования эндоцитоза мы оценивали захват FM1-43 в эндоцитозные везикулы сразу (0), через 1 и 2 минуты после выключения стимуляции 3 мин 20 Гц. В результате было показано, как эндоцитозный захват FM1-43 градуально уменьшается вслед за выключением стимуляции экзоцитоза. Вследствие обработки 25-ГХ (1 мкМ) захват FM1-43 был увеличен сразу (0 мин) и через 1 мин после выключения стимуляции, однако затем захват красителя был снижен. Это указывает на то, что при действии 25-гидроксихолестерина эндоцитоз синаптических везикул протекает усиленно и завершается быстрее. Следует отметить, что последующая деполяризация нагруженных FM1-43 нервных окончаний приводит к высвобождению красителя из везикул, которые захватили FM1-43 и сформировались после завершения стимуляции. В препаратах, обработанных 25-ГХ (1 мкМ), потеря красителя из этих везикул происходила существенно быстрее, чем в контроле. Следовательно, образованные в результате ускоренного эндоцитоза синаптические везикулы затем более эффективно вовлекаются в экзоцитоз.

В нервных окончаниях сосуществует несколько типов эндоцитоза: клатрин-зависимый и нет, а также с плоской поверхности мембраны и объёмный (bulk) эндоцитоз. Захват высокомолекулярных декстрана рHrodo, маркера bulk эндоцитоза, а также субъединицы В холерного токсина, связывающего липидные рафты, были ослаблены под влиянием 25-гидроксихолестерина. При этом в условиях ингибирования клатрина 25-ГХ сохранял способность усиливать захват FM1-43. Однако хелатирование внутриклеточного кальция, как и ингибирование освобождения Ca^{2+} через инозитол-трифосфатные рецепторы полностью предотвращали эндоцитоз-усиливающее действие 25-гидроксихолестерина. Следовательно, 25-ГХ потенцирует клатрин- и bulk-независимый эндоцитоз, что может определяться способностью 25-гидроксихолестерина стимулировать выброс Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-04-00077.

АКТИВНОСТЬ ЭКЗООКСИДОРЕДУКТАЗ *PENICILLIUM CYCLOPIUM* – АКТИВНОГО ДЕСТРУКТОРА ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ МЕТАКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

А. А. Курочкина, А. Ю. Шишкин, Р. С. Ковылин, В. Ф. Смирнов

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kandr60@yandex.ru

Микроскопические грибы являются активными деструкторами различных промышленных полимерных материалов и изделий из них, т.е. данные микроорганизмы способны использовать их в качестве источников углерода и энергии. Рост грибов на полимерах негативно влияет на их товарные и эксплуатационные характеристики. Ухудшение свойств полимеров происходит под воздействием агрессивных экзометаболитов грибов: ферментов, органических кислот и др. Особое значение среди ферментов имеют оксидоредуктазы, в частности каталаза и пероксидаза. Одним из наиболее распространенных способов защиты материалов от биоповреждений является введение в их состав биоцидных добавок. Изучение механизмов ингибирующего действия биоцидов способствует их целенаправленному и планомерному применению и позволит повысить эффективность использования данных химических соединений в качестве средств защиты полимерных материалов.

Целью работы являлось исследование активности каталазы и пероксидазы в процессе биодegradации полидиметакрилат триэтиленгликоля грибом *Penicillium cyclopium*.

Объект исследования: пористый полидиметакрилат триэтиленгликоля (ТГМ-3), изготовленный лабораторией фотополимеризации Института металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева, РАН, г. Н. Новгород. В качестве тест культуры использовали гриб *Penicillium cyclopium* (Westling) штамм ВКМ F-245. Данный штамм ранее был определен как активный биодеструктор вышеуказанного полимерного материала.

Для изучения изменения поверхности образцов полимера в процессе биодegradации использовался метод сканирующей электронной микроскопии. Для оценки влияния гриба на размер пор материала применялся метод ртутной порометрии.

Культивирование микромицета осуществлялось на жидкой обедненной по углероду питательной среде Чапека-Докса (ОПС) в течение 16 суток. В качестве дополнительного источника углерода в ОПС вносили полидиметакрилат триэтиленгликоля в количестве 0,1 г., а также полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ) в сублетальной концентрации 0,004%, которая подбиралась экспериментально. Биоцид вносили в среду культивирования на 4 сутки. Контрольными колбами служили варианты без биоцида.

Активность экзооксидоредуктаз определяли спектрофотометрическим методом, каталазу – по убыли оптической плотности 30 мМ раствора пероксида водорода при $\lambda=240$ нм, пероксидазу – по скорости окисления п-фенилендиамина в присутствии пероксида водорода при $\lambda=535$ нм.

Анализ экспериментальных данных показал, что при добавлении в питательную среду полимера наблюдалось повышение активности экзокаталазы и экзопероксидазы по сравнению с контролем, что указывает на возможность участия данных оксидоредуктаз в деструкции исследуемого материала. При добавлении биоцида каталитическая активность ферментов уменьшалась как случае культивирования гриба на ОПС, так и в случае с добавлением в среду полимера, при этом ингибирующее действие биоцида на каталазу было более выражено на 7-10 сутки, а на пероксидазу – на 13 сутки.

Таким образом, результаты эксперимента позволяют обосновать целесообразность применения полигексаметиленгуанидин гидрохлорида для защиты полимерных материалов на основе метакриловой кислоты и этиленгликоля, в том числе и ТГМ-3, в деструкции которых принимают участие экзооксидоредуктазы.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГИПЕРЭКСПРЕССИИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ BDNF, GDNF В ПРОТИВОСУДОРОЖНОЙ АКТИВНОСТИ У МЫШЕЙ МУТАНТНОЙ ЛИНИИ S8-3

А. О. Кустова, А. А. Бабаев, М. В. Ведунова, Т. А. Мищенко

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
elakust@gmail.com

Эпилепсия – хроническое заболевание головного мозга различной этиологии, которое характеризуется повторными судорожными припадками, возникающими в результате чрезмерных нейронных разрядов и сопровождающимися разнообразными клиническими и параклиническими симптомами. На сегодняшний день известно, что 70% случаев эпилепсии имеют генетическую природу, однако на патогенез сильное влияние могут оказывать факторы внешней среды. Создание мутантных линий мышей, имеющих генетическую предрасположенность к эпилепсии, открывают возможности проведения комплексных фундаментальных исследований, направленных на поиск генов, являющиеся причиной судорожных приступов, а также внести существенный вклад в разработку эффективных способов терапии данного заболевания. Потенциальными терапевтическими агентами, участвующими в предотвращении судорожной активности, рассматриваются нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) и глиальный нейротрофический фактор (GDNF). В связи с этим, целью нашей работы являлась оценка влияния гиперэкспрессии нейротрофических факторов BDNF, GDNF в развитии эпилептиформной активности у мутантной линии мышей S8-3 при провоцировании аудиогенных судорог.

Объектом исследования служили особи мутантной линии мышей S8-3 с генетической предрасположенностью к индуцированным звуком судорожным приступам. Данная линия была получена методом ENU-мутагенеза и размножена с закреплением фенотипического признака на базе SPF-вивария ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Контрольную группу составляли особи гибридной линии C3H+C57Bl6, полученные с использованием аналогичной схемы скрещивания без ввода ENU-мутагена. Новорожденным мышам на стадии P0 проводилась интравентрикулярное инъекционное введение рекомбинантных аденоассоциированных вирусов AAV-BDNF-eGFP и AAV-GDNF-eGFP, экспрессирующих BDNF или GDNF, из расчета 2 мкл на полушарие. В качестве контроля проводилось инъекционное введение натрий-фосфатного буфера (PBS) аналогичного объема. На 21 день постнатального развития у животных провоцировали аудиогенные судороги. Оценка судорожной активности проводилась по шкале Крушинского.

В результате проведенных исследований было показано, что в ответ на аудиогенную стимуляцию у животных гибридной линии C3H+C57Bl6 как контрольной, так и экспериментальной (с внесением вирусов) групп судорожная активность не развивалась. Напротив, в ответ на аудиогенную стимуляцию у мышей линии S8-3 была спровоцирована судорожная активность. В группе особей с инъекцией PBS в 20% случаях зафиксированы начальные судорожные проявления - манежный бег, в 10% случаев - тяжелые судорожные проявления с летальным исходом. Гиперэкспрессия нейротрофических факторов BDNF, GDNF способствовала снижению риска развития тяжелых судорожных приступов. В группах животных с интравентрикулярной инъекцией вирусов AAV-BDNF-eGFP и AAV-GDNF-eGFP в ответ на аудиогенную стимуляцию стадия манежного бега развивалась в 13% и 17% случаях соответственно, летальные исходы отсутствовали.

Таким образом, нами показан выраженный нейропротекторный эффект нейротрофических факторов BDNF, GDNF, который указывает на их значимую роль в реализации адаптационных механизмов при развитии эпилептиформной активности.

Работа выполнена в рамках проекта госзадания Министерства науки и высшего образования РФ № 0729-2020-0061 с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Молекулярной биологии и нейрофизиологии» ННГУ им. Н.И.Лобачевского.

IN SILICO АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ВАРИАбельНОСТИ S-БЕЛКА ВИРУСА SARS-COV-2 ВАРИАНТА ОМИКРОН НА ИНДУКЦИЮ СПЕЦИФИЧЕСКОГО Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У СОБАК

М. С. Лаврухин, С. С. Зайцев, М. А. Хижнякова, А. М. Ляпина, В. А. Федорова

Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального исследовательского центра вирусологии и микробиологии, 410028, Саратов, ул. 53-й Стрелковой Дивизии, 6; feodorovav@mail.ru

S (spike)-белок вируса SARS-CoV-2 играет важную роль в формировании иммунного ответа к возбудителю коронавирусной инфекции и является ключевым компонентом профилактических препаратов против данного заболевания, в том числе вакцин, разрабатываемых для животных-компаньонов. Новый вариант SARS-COV-2 омикрон, обнаруженный в ноябре 2021 года и стремительно распространившийся на территории более чем 100 стран мира, несет значительное число мутаций в гене S-белка, потенциально влияющих на формирование иммунореактивных эпитопов и их презентацию иммунной системе хозяина. Цель работы – изучить влияние полиморфизма аминокислотной последовательности S-белка SARS-CoV-2 штаммов омикрон на индукцию CD8⁺ Т-клеточного иммунного ответа у собак с применением биоинформатических методов *in silico*.

В работе использовались аминокислотные (aa) последовательности S-белка SARS-CoV-2 трех штаммов омикрон, принадлежащих к клайдам GRA, GR и O, соответственно, извлеченные из базы данных GISAID (<https://www.gisaid.org>). Выравнивание и поиск замен в аминокислотном составе проводили относительно референтного штамма, выделенного в Китае (Ухань) с использованием онлайн платформы Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>).

Сравнение аминокислотных сиквенсов выявило наличие 31 aa замены в последовательностях S-белка трех исследуемых клайдов штамма омикрон по сравнению с референтным штаммом. При этом 54,8% замен были идентичны для всех трех клайдов, 19,4% встречались у двух из трех штаммов омикрон (5 замен общие для GRA и GR, 1 – для GR и O), и 25,8% встречались только у одного клайда – GRA.

Поиск эпитопов S-белка, обладающих высоким сродством к DLA (dog leukocyte antigen) I класса был проведен с использованием инструмента MHC I Binding, IEDB (<http://tools.iedb.org/mhci/>) согласно стандартным критериям отбора (percentile rank ≤ 1). Всего для референтного штамма было предсказано 272 лиганда, для клайда GRA - 281 эпитоп, для клайда O – 275, и для GR – 268 эпитопов. При этом 76,2 % были консервативны, то есть встречались как во всех трех исследуемых клайдах варианта омикрон, так и в референтном штамме. Значительно меньшая часть эпитопов была общей для 3х (7,9%) или 2х (3,1%) из 4х анализируемых штаммов. Важно подчеркнуть, что 29 предсказанных эпитопов (12,8%) встречались исключительно в одном из четырех штаммов, то есть являлись уникальными. Из них 12 эпитопов (41,4%) были отмечены в составе aa сиквенса S-белка клайда GRA, а 17 (58,6%) – референтного штамма.

Таким образом, *in silico* анализ показал, что, несмотря на высокую вариабельность аминокислотной последовательности S-белка в новом варианте вируса SARS-CoV-2 омикрон, значительное число Т-клеточных эпитопов (более 2/3) остается консервативным, позволяя предполагать сохранение эффективности цитотоксического Т-клеточного ответа против нового варианта у иммунных животных. В то же время появление уникальных эпитопов определяет необходимость дальнейшего изучения влияния вариабельности S-белка на формирование иммунного ответа у животных-компаньонов, являющихся потенциальным резервуаром коронавирусной инфекции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 20-04-60349).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Е. В. Лазаренко^{1, 2}, И. С. Судакова¹, С. Н. Плескова^{1, 2}

¹Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, 603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24; *Iazarenko.ekaterina@internet.ru*

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

В наше время одной из актуальных проблем в медицине является стремительное распространение антибиотикорезистентности среди различных штаммов бактерий, что неминуемо приводит к росту количества инфекционных и нозокомиальных заболеваний, трудно поддающихся лечению.

Существующие на данный момент методы, позволяющие определять чувствительность бактерий к антибиотикам, имеют принципиальные недостатки. Широко применяемый диско-диффузионный метод позволяет дать информацию о чувствительности бактерий к антибиотикам в течение 5–7 дней. За это время общее состояние больного может значительно ухудшиться, а использование антибиотиков широкого спектра действия приводит лишь к распространению среди бактерий устойчивости к антибиотикам. Поэтому остро стоит вопрос о разработке новых методов, позволяющих определять чувствительность к антибиотикам в более короткие сроки. Одна из таких методик основывается на определении характеристики метаболизма бактерий путем детекции колебаний или нановибраций, которые осуществляют микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности. С помощью атомно-силового микроскопа возможно зарегистрировать эти колебания за счет отклонений основного сенсорного элемента (кантилевера), амплитуда которых дает информацию о метаболической активности клеток.

Для отработки метода использовались бактерии *Escherichia coli* 321. Суточная культура, выращенная в питательной среде LB, трижды отмывалась стерильной LB, после чего на спектрофотометре (СПЕКС ССП 705, Россия) при длине волны $\lambda=670$ доводилась до концентрации 10^9 кл/мл, что соответствовало 10МЕ. Для обеспечения прочного прикрепления бактерий кантилевер обрабатывался в течение 10 минут 0,01% поли-L-лизином, далее трижды отмывался дистиллированной водой и инкубировался в суспензии бактерий в течение 30 минут. Кантилевер устанавливался в холдер атомно-силового микроскопа и погружался в аналитическую камеру, где содержалось 5мл стерильной среды LB. В течение 15 минут проводилось снятие аналитического сигнала DFL. После экспозиции кантилевера с бактериями из аналитической камеры отбиралось 2 мл питательной среды и вносилось 2 мл раствора гентамицина. Измерения DFL в среде с антибиотиком проводились в течение 60 минут. Для снятия контрольного сигнала DFL, дающего информацию о среднем уровне шума в помещении, использовали кантилевер, который был обработан поли-L-лизином, но не был инкубирован с бактериями.

По результатам исследования был установлен факт увеличения амплитуды колебаний кантилевера после адгезии на его поверхность бактерий *E. coli* 321, однако после добавления в аналитическую камеру гентамицина амплитуда уменьшается вплоть до сравнимой с контролем, что говорит об угнетении жизнедеятельности бактерий. Наличие или отсутствие изменения амплитуды колебаний кантилевера дает информацию о характере реакции бактерий на антибиотик, что подтверждает эффективность данного метода и дает возможность определения антибиотикорезистентности в более короткие сроки.

Работа выполнена при поддержке гранта «Приоритет-2030» Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ АНТИТЕЛ К VP1 НОРОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА

В. А. Даниш^{1, 2}, В. В. Мохонов², Е. В. Мохонова², Д. А. Мелентьев^{1, 2}, Д. Е. Зайцев^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

Fridens.95@yandex.ru

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

Норовирусы (сем. *Caliciviridae*, род *Norovirus*) на данный момент занимают второе место среди возбудителей вирусных кишечных заболеваний. Норовирусная инфекция характерна для всех возрастных групп, к основной группе риска развития тяжёлой формы заболевания относятся дети до 5 лет и пожилые люди. Целью работы стало исследование частоты встречаемости антител к VP1 норовируса человека.

Для получения рекомбинантного VP1 использована нуклеотидная последовательность белка VP1 эпидемического варианта норовируса генотипа GII.4 В качестве экспрессионного штамма был использован штамм Rosetta2 (DE3), клетки которого были трансформированы вектором pET22-VP1 и использованы для наработки рекомбинантного белка.

Полученный белок VP1 применялся в качестве антигена в иммуноферментном анализе для определения частоты встречаемости антител к нему.

Взаимодействие VP1 с антителами различных классов детектировали с использованием меченых пероксидазой моноклональных антител против IgG, IgM и IgA человека. Наличие антител определяли в образцах сыворотки крови 88 доноров крови и 64 больных хроническим гастритом.

Антитела класса IgG детектировались у 33% доноров крови, антитела класса IgM – у 37%. Общая частота встречаемости антител составила 63%. Также были определены антитела класса IgA, частота их встречаемости у доноров крови составила 13%. Представленные результаты соответствуют литературным данным.

Подобный результат был получен при исследовании образцов сыворотки крови больных хроническим гастритом. Частота встречаемости антител класса IgG у больных составила 33%, антител класса IgM – 19%, антитела класса IgA обнаруживались у 7% больных. В сумме в 48% исследованных образцов сыворотки крови были детектированы антитела разных классов к VP1 норовируса.

Больные хроническим гастритом были разделены на три возрастные подгруппы: 18–40 лет, 41–60 лет, 61 год и старше. Сравнение частоты обнаружения антител класса IgG между тремя группами показало, что IgG-антитела против VP1 выявляются чаще в образцах сыворотки крови лиц в возрасте от 18 до 40 лет.

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что антигенные эпитопы рекомбинантного VP1 норовируса GII.4 распознаются антителами человека, что показывает сходство его антигенных свойств со свойствами VP1 норовируса, циркулирующего в популяции.

ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСОВ ИЗ ЯГОД ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ И АНАЛИЗ ИХ СПОСОБНОСТИ К ПРОДУКЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

М. В. Ларина, А. А. Брилкина, Е. В. Березина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mari_larina99@mail.ru

Одним из частых объектов в исследованиях, связанных с фенольными соединениями, являются представители семейства вересковые (Ericaceae). В семейство вересковые входят такие ягодные растения, как голубика (*Vaccinium corymbosum*, *V. uliginosum*), черника (*V. myrtillus*), брусника (*V. vitis-idaea*), клюква (*Oxycoccus macrocarpus* и *O. palustris*). Некоторые виды известны своими пищевыми и лекарственными свойствами, поэтому культивируются в промышленном масштабе (например, *V. corymbosum* и *O. macrocarpus*). Важной характеристикой лекарственных свойств культурных растений является содержание в них биологически активных веществ, в т.ч. фенольных соединений. При этом синтез таких веществ ограничен сезонностью развития растений, а также медленным приростом биомассы, характерным для вересковых. Целью работы было получение каллусной культуры голубики и анализ ее способности к синтезу фенольных соединений.

Объектом исследования была каллусная культура из ягод голубики щитковой (*V. corymbosum*). Для инициации каллусов зрелые и незрелые ягоды голубики щитковой стерилизовали с использованием в двух вариантах режимов стерилизации: (1) 30 мин в мыльном растворе, 1 мин в 80% этаноле, 3 мин в 5% NaOCl, 3 мин в 5% H₂O₂, 2 раза в дистиллированной воде по 3 мин; либо (2) 30 мин в 4% растворе препарата «Серебромедин» («Био-комплекс», Россия), 3 мин в 80% этаноле, 3 мин в 7% NaOCl, 3 мин в 15% H₂O₂, 2 раза в дистиллированной воде по 3 мин. Стерильным скальпелем делили ягоды на 4 части и в качестве эксплантов использовали или экзокарп, или мезокарп, или перикарп. Экспланты помещали на агаризованную питательную среду WPM, дополненную фитогормонами (0.5 мг/л 2,4-Д, 0.5 мг/л БАП). Выращивание культур проводили на свету (освещение интенсивностью 60 мкмоль квантов/м²·с, фотопериод – 16/8 ч) в стеклянных сосудах на 100 мл; объем питательной среды – 25 мл. Длительность периода инициации каллусов (0 пассажа) – 8 недель, следующих пассажей – по 4 недели. По окончании каждого цикла культивирования проводили анализ уровня фенольных соединений (растворимые фенольные соединения, флавоноиды, катехины и проантоцианидины).

Частота каллусообразования при стерилизации по схеме (1) была выше (62,5%), чем по схеме (2) (56,25%). В качестве экспланта лучшим оказался экзокарп: частота каллусообразования составила 62,5%; из мезокарпа каллусы получить не удалось. Полученные нами каллусы голубики щитковой синтезируют значительное количество фенольных соединений: содержание растворимых фенольных соединений и флавоноидов может достигать 18 мг/г сырой массы, катехинов – 7 мг/г сырой массы и проантоцианидинов – 9 мг/г сырой массы. Содержание фенольных соединений в каллусах, полученных из ягод, оказалось не ниже, чем в каллусах, полученных из листьев стерильных растений.

ВЛИЯНИЕ СТАДИИ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА НА УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ КРЫС С ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ

А. Н. Лебедева, Р. Г. Каримова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
1317kraski@gmail.com

Гипергомоцистеинемия – это заболевание, характеризующееся аномально высоким уровнем гомоцистеина в крови, обычно описываемым как превышающий 15 мкмоль/л.

Гомоцистеин обладает выраженным токсическим действием на клетку. Для защиты клетки от повреждающего действия гомоцистеина существуют специальные механизмы выведения его из клетки в кровь. В случае появления избытка гомоцистеина в организме он накапливается в крови, и основным местом повреждающего действия этого вещества становится внутренняя поверхность сосудов. Гипергомоцистеинемия приводит к повреждению и активации эндотелиальных клеток (клеток выстилки кровеносных сосудов), что значительно повышает риск тромбозов. Высокие уровни гомоцистеина вызывают «окислительный стресс», усиливают агрегацию тромбоцитов и вызывают активацию коагуляционного каскада, ведут к нарушению эндотелий зависимой вазодилатации и стимуляции пролиферации гладкомышечных клеток.

Известно, что у взрослых крыс повышенное содержание гомоцистеина является важным фактором развития когнитивных нарушений. Также в литературе есть данные о нарушении краткосрочной и долговременной памяти при хроническом введении гомоцистеина крысам. Исходя из этого, изучение уровня тревожности крыс при гипергомоцистеинемии является актуальной задачей.

Перед нами стояла цель – изучить уровень тревожности крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией в зависимости от стадии эстрального цикла.

Эксперименты проведены на белых крысах линии Wistar. Во время эксперимента крысы содержались в стандартных условиях вивария университета в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) при температуре окружающего воздуха (22 ± 2) °C, 12-часовом синхронизированном световом режиме, с комбинированным кормом и водой в свободном доступе. Гипергомоцистеинемию моделировали введением метионина с кормом (7,7 г/кг в сутки). Уровень тревожности крыс определяли в поведенческой модели «темно-светлая камера». Стадию эстрального цикла определяли методом микроскопии влагалищных мазков.

Статистический анализ проводили методами непараметрического и параметрического анализа с использованием программного обеспечения OriginPro (OriginLab, США). Использовали парный t-критерий Стьюдента или тест ANOVA для множественных сравнений, чтобы определить статистические различия для независимых выборок.

Установили, что время нахождения в светлой и темной камерах у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией зависит от стадии эстрального цикла. В стадии проэструса и эструса крысы больше времени проводили в темной камере, а в стадии метаэструса и диэструса – в светлой. При этом количество вертикальных стоек и активность груминга достоверно не изменялись. Так, в стадию проэструса крысы находились в светлой камере $34,6 \pm 5,2$ с, а в стадию метаэструса – $79,7 \pm 13,5$ с ($p < 0,01$).

Следовательно, более высокий уровень тревожности у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией отмечается в стадии проэструса и эструса.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*,
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРУПНОМ СТАЦИОНАРЕ Г. НИЖНЕГО НОВГОРОДА**

***Е. А. Левичева*¹, *А. Г. Точилина*², *И. В. Белова*², *И. В. Соловьева*²**

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kate.lekat@yandex.ru

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

Klebsiella pneumoniae – грамотрицательные бактерии семейства Enterobacteriaceae, являющиеся третьим по частоте грамотрицательным возбудителем нозокомиальных инфекций. Кроме того, в настоящее время опасность *K. pneumoniae* постоянно увеличивается, благодаря росту устойчивости клебсиелл к антибактериальным препаратам разных функциональных классов, а также из-за распространения по всему миру гипервирулентных клебсиелл. Целью настоящей работы стало исследование генотипов антибиотикорезистентности и вирулентности, а также установление сиквенс-типов внутрибольничных штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в крупном стационаре.

Данное исследование включало два основных этапа: типирование штаммов *K. pneumoniae* и определение генетических детерминант β-лактамаз расширенного спектра и детерминант вирулентности,

Для работы культуры инкубировали при 37°C в течение 24 часов на среде Плоскирева. Далее проводили экстракцию белков муравьиной кислотой, с последующей идентификацией микроорганизмов с использованием MALDI TOF масс-спектрометра Autoflex (Bruker). Полученные масс-спектры штаммов анализировали с помощью построения SSI матрицы. В результате было выявлено родство штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в одном из отделений стационара и единичные случаи родства штаммов в других отделениях.

Далее для выполнения MLST типирования были амплифицированы и секвенированы последовательности генов домашнего хозяйства *K. pneumoniae*. В ходе анализа полученных фрагментов, с использованием международной базы данных Института Пастера (<http://bigsd.pasteur.fr>), были выявлены характерные комбинации аллелей и установлено наличие следующих сиквенс-типов в выборке – 395, 147 и 1884. При этом штаммы сиквенс-типа 1884 ранее не встречались на территории Российской Федерации.

На следующем этапе проводили детекцию детерминант антибиотикорезистентности и гипервирулентности. В результате у исследованных штаммов *K. pneumoniae* были обнаружены детерминанты β-лактамаз: bla_{OXA-48}, bla_{SHV}, bla_{NDM}, bla_{TEM}, а также гены mrkD, iutA, характерные для гипервирулентных штаммов клебсиелл.

Таким образом, были установлены биологические и молекулярно-генетические свойства исследованных внутрибольничных штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в стационаре Нижнего Новгорода.

ПРОТЕКТИВНЫЙ АЛЛЕЛЬ ГЕНА *CD6* В ОТНОШЕНИИ РАЗВИТИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

В. Р. Лежнева¹, А. Р. Муллахметова¹, Г. Д. Ожегов¹, А. В. Захаров², Е. В. Мартынова¹, Ю. Н. Давидюк¹, С. Ф. Хайбуллина¹, А. А. Ризванов¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
veralezhnyova@gmail.com

²Самарский государственный медицинский университет, 443001, Самара, ул. Чапаевская, 89

Рассеянный склероз (РС) — это воспалительное нейродегенеративное заболевание, поражающее центральную нервную систему. РС характеризуется разрушением миелиновой оболочки нейронов, что приводит к инвалидизации больных. В настоящее время механизмы, ведущие к развитию РС, остаются неизвестными. Одной из предполагаемых причин возникновения РС является наличие однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах иммунной системы. Однако данные о взаимосвязи SNP и РС в российской популяции ограничены. В связи с этим целью данного исследования было оценить генетическую предрасположенность к прогрессированию РС у пациентов из г. Самара.

Геномную ДНК экстрагировали из образцов цельной крови 99 пациентов с рассеянным склерозом и 50 контрольных пациентов с использованием ExtractDNA Blood&Cells в соответствии с инструкцией производителя. Генотипирование проводили с помощью аллель-специфической полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР), а идентификацию продуктов ПЦР проводили с помощью гель-электрофореза. Детекцию продуктов АС-ПЦР проводили в системе GelDoc XR+ Imaging (Bio-Rad, США). Данные были проанализированы с использованием PLINK v1.90b6.21. Распределение генотипов оценивали с помощью критерия хи-квадрат Пирсона, а силу ассоциаций оценивали с помощью отношения шансов (OR). Связь SNP со значением показателя тяжести рассеянного склероза (MSSS) измеряли с помощью теста Вальда.

Были изучены четыре SNP: rs12044852 и rs2300747 в гене *CD58*, rs17824933 и rs929230 в гене *CD6*. Нами было установлено, что три SNP не имеют значимой связи с РС (rs12044852 ($p=0,082$, OR=0,531), rs2300747 ($p=0,219$, OR=0,608), rs17824933 ($p=0,095$, OR=1,770)). Однако SNP rs929230 (G>A) в гене *CD6* статистически коррелировал с РС, $p=0,756 \times 10^{-6}$ и OR=0,241. Частота аллеля А у больных РС составила 0,194 по сравнению с 0,500 в контрольной группе. Однако отклонений от закона генетического равновесия не обнаружено, $p=0,348$. Также не было обнаружено корреляции между SNP и степенью инвалидности, оцениваемой по шкале MSSS.

В совокупности эти данные показывают, что наличие в геноме аллеля А (*CD6* rs929230) ассоциировано с меньшей частотой развития РС в российской когорте больных. На основании этого вывода можно предположить, что аллель А играет защитную роль в развитии РС.

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА МИКОБИОНТА И ФОТОБИОНТА ЛИШАЙНИКА *LOBARIA PULMONARIA* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ

И. Ю. Лексин, Ф. В. Минибаева

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, 420111, Казань,
ул. Лобачевского 2/31; lecsinilya@mail.ru

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская 18

Лишайники являются экстремофильными симбиотическими организмами, которые способны выживать при воздействии различных неблагоприятных факторов среды. При этом симбионты в составе лишайника могут вносить свой вклад в стрессовый ответ. Это может проявляться как на уровне изменений в биосинтезе вторичных метаболитов, так и защитных белков. Среди механизмов высокой стрессовой устойчивости лишайников наименее изученным является изменение активности генов в лишайниках при стрессовых воздействиях.

В настоящей работе мы проанализировали дифференциальную экспрессию генов в лишайнике *Lobaria pulmonaria* в ответ на УФ-индуцированный стресс. Геномы мико- и фотобионта *L. pulmonaria* секвенированы и находятся в свободном доступе на портале JGI (Joint Genome Institute). Талломы лишайников подвергались воздействию УФ-Б излучения в течение 14 дней. Анализ экспрессии генов был выполнен с помощью транскриптомного анализа и верифицирован методом количественной ПЦР.

Среди дифференциально экспрессированных генов (ДЭГов) фотобионта были выявлены гены, кодирующие низкомолекулярные белки теплового шока (БТШ), глутатион-зависимые ферменты, тиоредоксины. Среди ДЭГов микобионта присутствовали гены, кодирующие БТШ, ферменты антиоксидантной защиты, компоненты систем убиквитинирования и протеолиза. Большое число ДЭГов связаны с работой митохондрий (митохондриальные БТШ, митохондриальные транспортеры, компоненты электрон-транспортной цепи и их шапероны). Интересно, что экспрессии альтернативной оксидазы увеличивалась у обоих симбионтов.

Кортекс грибного симбионта лишайника в наибольшей степени подвергается действию УФ-излучения, поэтому его стрессовая реакция была более выражена, чем у фотобионта. В кортексе накапливаются фотопротекторные метаболиты. Мы показали, что УФ-индуцированный стресс приводит к повышению экспрессии генов, вовлечённых в биосинтез тёмного пигмента меланина. Кроме того, был идентифицирован генный кластер, участвующий в биосинтезе ксантонов, которые являются потенциальными фотопротекторными метаболитами. Обнаружено, что УФ воздействие индуцирует изменения в основных метаболических путях. Так, наблюдались изменения в экспрессии генов фотобионта, связанных с ассимиляцией азота и метаболизмом мочевины. У микобионта наблюдались изменения ДЭГов, вовлечённых в ассимиляцию азота, шикиматный путь, метаболизм аминокислот, мочевины, липидов и терпенов.

Наши данные свидетельствуют о том, что УФ-индуцированный стрессовый ответ в лишайнике *L. pulmonaria* регулируется изменениями активности генов фото- и микобионта.

Работа проводилась в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН и поддержана грантом РФФИ № 18-14-00198.

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ И НИЗКОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ В ОРГАНИЗМЕ ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ И ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ РАКОМ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ

Л. К. Лисаченко, С. В. Трофимова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lkliliya@yandex.ru

Использование плазменных технологий в противоопухолевой терапии является одним из перспективных направлений современной фундаментальной медицины. Показан цитотоксический эффект плазмы в отношении рака молочной железы, плоскоклеточного рака головы и шеи, папиллярного рака щитовидной железы и др. При формировании плазмы разряда происходит генерация H_2O_2 , NO_2 , ионов NO_3^- и NH_4^+ , пероксинитрит, которые способны инициировать окислительное повреждение биомолекул. В свою очередь процессы деградации липидов, белков и нуклеиновых кислот под действием газоразрядной плазмы могут усугублять процессы эндогенной интоксикации, которыми сопровождается канцерогенез. В связи с этим целью работы явилось изучение уровня молекул средней и низкой молекулярной массы в организме интактных крыс и крыс с трансплантированной опухолью желчных протоков печени РС-1 после воздействия излучением газоразрядной плазмы.

Генерация искрового разряда проводилась импульсным устройством, имеющим следующие характеристики: 100 мкс - длительность одного импульса, 11 кВ - напряжение, 5.9×10^{-2} Дж - энергия в одном импульсе, 10 Гц - частота импульсов. Плазменный шнур искрового разряда излучал в широком оптическом диапазоне 200–800 нм с максимумом при 220 нм. Животные были разделены на 4 экспериментальные группы: интактные крысы без обработки; интактные крысы, обработанные излучением плазмы искрового разряда; крысы с трансплантированной экспериментальной опухолью линии РС-1 без обработки; крысы с трансплантированной экспериментальной опухолью линии РС-1, обработанные излучением плазмы искрового разряда. В экспериментальных группах животных обрабатывали излучением газоразрядной плазмы в течение 5 минут на 31, 32 и 33 сутки после трансплантации опухолевых клеток. Для исследования забирали кровь и мочу через 48 часов после последнего воздействия. Содержание веществ средней и низкой молекулярной массы (ВНиСММ) определяли в моче, эритроцитах и плазме по методу М.Я. Малаховой. При длине волны 254 нм регистрировали содержание гидрофобных токсинов, содержащих небелковые продукты различной природы; при длине волны 260 нм - продукты разрушения нуклеопротеидов; при длине волны 280 нм - продукты неполного распада белков, содержащих ароматические аминокислоты. Концентрацию ВНиСММ выражали в условных единицах (усл.ед.) оптической плотности.

При изучении уровня ВНиСММ в моче, эритроцитах и плазме интактных животных после воздействия излучением плазмы искрового разряда статистически значимых изменений выявлено не было. После воздействия излучением плазмы на крыс с раком печени было зарегистрировано выраженное снижение содержания ВНиСММ в моче в 1,5 раза и в плазме крови в 1,5–2 раза относительно необработанных животных с неопластическим процессом. Максимальное снижение выявлено во фракции, состоящей из ароматических аминокислот.

Таким образом, установлено, что воздействие излучением газоразрядной плазмы с изученными характеристиками в течение 5 минут трехкратно не приводит к интенсификации процессов эндогенной интоксикации в организме интактных животных и животных с экспериментальным раком. Зарегистрировано снижения уровня эндогенной интоксикации в организме животных с неопластическим процессом после воздействия плазмы искрового разряда.

ВЕГЕТАТИВНЫЕ И КОГНИТИВНЫЕ ОТОБРАЖЕНИЯ ЭМОЦИОГЕННЫХ АУДИОВИЗУАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ

И. В. Лоскот, А. В. Полевая, С. А. Полевая

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
vanya.loskot@gmail.com

Благодаря развитию технологий виртуальной реальности и телеметрии созданы новые возможности для решения проблемы объективизации эмоций. В нашей работе проведено цифровое психофизиологическое картирование взаимодействия разномодальных аффективных стимулов – аудиальных и визуальных - при формировании субъективного эмоционального образа. Дана оценка динамики уровня эмоциональной дезадаптации и функционального состояния, связанной с изменениями валентности аудиовизуального контента.

Для создания аффективного стимульного материала мы использовали существующие международные базы аффективных звуков (IADS) (Stevenson R.A. et al., 2008) и изображений (IAPS) (Lang et al., 2008). Когнитивные отображения аффективных стимулов формировались с применением стандартизированной методики цифровизации эмоциональных образов Self-Assessment Manikin (SAM) (Cook III E.W., 1987), позволяющую оценить валентность, силу и влияние стимула по 9-бальной шкале. Для оценки уровня эмоциональной дезадаптации применен метод Оценки уровня эмоциональной дезадаптации (УЭД) (Рунова Е.В. и др. 2013), позволяющий получить оценку эмоционального состояния по базовым потребностям: в безопасности; в независимости; в достижении; в единении (близости). Динамика функционального состояния определялась на основе анализа варибельности ритма сердца, зарегистрированного с помощью технологии Событийно-связанной телеметрии ритма сердца (Полевая С.А. и др., 2016). Для анализа варибельности ритма сердца применены методы статистического, спектрального и геометрического анализа, а также алгоритмы донозологической диагностики по классификации функциональных состояний по Баевскому Р.М. (Баевский Р.М. и др., 2001). Рост адаптационного потенциала, увеличение функциональных резервов, снижение напряжения регуляторных систем рассматривалось, как признаки оптимизации функционального состояния. Проведен дисперсионный, корреляционный и кластерный анализ.

На разных этапах исследования принял участие 191 человек (от 17 до 56 лет, 120 женщин и 71 мужчина). На основе оценок в SAM установлено, что при интеграции любых негативных стимулов проявляется усиление негативности оценки контента, а при интеграции разновалентных стимулов проявляется редукция эмоциональной оценки. В динамике уровня эмоциональной дезадаптации выявлены следующие эффекты: при интеграции положительных стимулов эмоциональная дезадаптация снижается; при интеграции негативных - повышается; при использовании разновалентных стимулов уровень эмоциональной дезадаптации зависит больше от валентности звука, чем от изображения; проявилась группа с высокой исходной дезадаптацией и для испытуемых из нее были характерны обратные (или девиантные) реакции на моновалентные стимулы. Благодаря донозологической диагностике установлено что вероятность «физиологической нормы» выше при интеграции позитивных стимулов, вероятность «преморбидного состояния» выше при интеграции негативных, а интеграция разновалентных стимулов повышает вероятность «дононологии».

Полученные данные свидетельствуют, что когнитивные и вегетативные отображения эмоциогенных стимулов связаны с исходным уровнем функционального состояния и эмоциональной дезадаптации. Впервые показано, что при взаимодействии одновалентных разномодальных стимулов происходит взаимоусиление валентности, а при взаимодействии разновалентных – взаимоугашение. Выявлено рассогласование динамики когнитивных и вегетативных отображений.

Исследование поддержано в рамках программы Приоритеты 2030 "Исследование и разработка способов персонализации и оптимизации психофизиологических методов диагностики функциональных состояний человека"

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ КЛЕТОК КОЛОНИАЛЬНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ РОДА *MICROCYSTIS* С ПОМОЩЬЮ ПРОГРАММЫ IMAGEJ

Т. А. Лукашова, Н. А. Старцева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
lukatania@bk.ru

В водных экосистемах при современном уровне антропогенного воздействия часто возникает «цветение» воды из-за массового развития цианобактерий. Многие из них являются потенциально токсичными видами, способными вызывать отравления вплоть до летального исхода. Численность цианобактерий более $20 \cdot 10^6$ клеток/л в воде, используемой в рекреационных целях, по нормам ВОЗ уже представляет опасность для здоровья. При альгологических исследованиях количественный учет цианобактерий обычно проводится с использованием камеры Нажотта площадью 1 см^2 , глубиной 0,1 мм и общим объемом 0,01 мл. Дно камеры расчерчено на 40 вертикальных полос. При подсчете численности цианобактерий в 1 л или 1 м^3 число клеток умножается на коэффициент, связывающий площадь (объем) просмотренных полос с общей площадью (объемом) камеры. При этом считается, что клетки в камере располагаются в один слой. Однако колонии *Microcystis* имеют объем и могут содержать от десятков до сотен и даже тысяч неравномерно распределенных клеток, объединенных общей колониальной слизью различной консистенции, прочно удерживающей их вместе. В таком случае определение числа клеток в колонии простым их подсчетом в камере становится крайне затруднительным.

В связи с этим, целью настоящей работы являлось определение численности клеток колониальных цианобактерий *Microcystis* с помощью программы ImageJ, которая является одной из популярных, доступных и быстрых программ по анализу и обработке изображений на Java. Объектом исследования послужили фиксированные пробы воды из озера Нестиар (Нижегородская обл.), отобранные в летнюю межень 2019 г. и содержащие крупные хлопья колоний *Microcystis*. Для разбиения колоний на отдельные клетки на пробу воды воздействовали ультразвуком. Опыт проводили трижды по 3 мин. в ультразвуковой ванне Quick 218-35. При просмотре пробы камера Нажотта была заменена на обычное предметное стекло. На него пипет-дозатором Brand Transferpette S наносилась капля пробы объемом 0,5 мл и закрывалась покровным стеклом $2,5 \times 2,5 \text{ см}$. При таком объеме капли не происходило утечки материала за края покровного стекла. Кроме того, при известном объеме капли, при необходимости, можно будет произвести пересчет клеток на требуемые объемы воды. В результате эксперимента колонии разбились не до конца, но клетки расположились отдельно друг от друга, стали хорошо различимы и пригодны для подсчета в программе ImageJ. Затем на смартфон Iphone XR с разрешением камеры 12 Мрх были сделаны фотографии колоний с помощью микроскопа MeijiTechno 4200 (Япония) при 200-кратном увеличении. Далее провели обработку фотографий в ImageJ по разработанному протоколу. Перевели их в 8-битное изображение, установили значения пределов распознавания. Далее разделили соприкасающиеся частицы функцией «водораздел». Измеряемыми параметрами выбрали площадь и периметр исследуемых частиц (клеток). После проведения измерений сверили исходное фото с рисунком, который создала программа ImageJ, убедившись в сопоставимости изображений, произвели автоматический подсчет клеток в колонии.

Таким образом, предложенный способ пробоподготовки альгологического материала, содержащего колониальные цианобактерии *Microcystis*, и последующая обработка его в программе ImageJ по известному протоколу является удобным инструментом при определении численности цианобактерий. Данная процедура предлагается нами как альтернатива рутинным, не всегда точным, методам определения числа клеток некоторых колониальных цианобактерий.

СЕКВЕНИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМА РОСТОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ РИЗОСФЕРНОЙ БАКТЕРИИ *BREVIBACTERIUM SEDIMINIS* MG-1

М. Т. Лутфуллин, А. М. Марданова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
lutfullin.marat2012@yandex.ru

Бактерии фила *Actinobacteria* имеют важное сельскохозяйственное значение, поскольку они способны увеличивать рост и улучшать питание растений за счет прямого стимулирования роста. Показано, что колонизация растений актинобактериями повышает устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам. Актинобактерии играют важную роль в улучшении плодородия сельскохозяйственных почв. В ризосферной почве актинобактерии составляют большую часть микробной биомассы, более 30% от общей популяции почвенных микробиомов. Известно, что актинобактерии рода *Brevibacterium* обладают высоким биотехнологическим потенциалом, являются продуцентами вторичных метаболитов: биосурфактантов, бактериоцинов, каротиноидов, разлагают органические загрязнители, такие как фенол, 4-хлорфенол и аммиак, выступают в качестве бактерий, стимулирующих рост и развитие растений. Целью данной работы являлась характеристика и аннотация генома ризосферной бактерии *B. sediminis* MG-1.

Ранее было проведено секвенирование и идентификация нового штамма неспорообразующей грамположительной бактерии, выделенной из ризосферы растений картофеля, классифицированной как *B. sediminis* MG-1 на основе полногеномного секвенирования. Секвенирование генома было проведено на платформе Illumina HiSeq2500 (Illumina) с библиотекой парных концов длиной 251 п.н. Полная последовательность генома *B. sediminis* MG-1 была депонирована в базу данных GenBank под регистрационным номером NZ_VDMQ00000000.

Для функциональной аннотации генома *B. sediminis* MG-1 был использован сервер RAST. Для поиска генов, участвующих в биосинтезе вторичных метаболитов, бактериоцинов и бактерицидных посттрансляционно-модифицированных пептидов была использована программа antiSMASH 3.0 и Bagel4.

С использованием сервера RAST в геноме *B. sediminis* MG-1 были обнаружены генные кластеры, ответственные за синтез вторичных метаболитов – растительных гормонов, в частности за биосинтез ауксина (альфа-цепь триптофансинтазы (EC 4.2.1.20), декарбоксилаза ароматических L-аминокислот (EC 4.1.1.28), антранилатфосфорибозилтрансфераза (EC 2.4.2.18), бета-цепь триптофансинтазы (EC 4.2.1.20), моноаминоксидаза (1.4.3.4). Были также обнаружены генные кластеры, ответственные за усвоение железа и метаболизм сидерофоров: петробактин (4 гена), энтеробактин (1 гена), аэробактин (4 гена). В транспорте сидерофоров катехольного типа у штамма *B. sediminis* MG-1 участвует ABC-транспортер, состоящий из АТФ-связывающего белка, пермеазы I, пермеазы II, периплазматического связывающего белка. Анализ с помощью программы antiSMASH показал, что геном *B. sediminis* MG-1 имеет 16 потенциальных генных кластеров, ответственных за синтез жирных кислот, терпенов, сахаридов, эктоинов, поликетидов, сидерофоров. Анализ antiSMASH выявил геномные локусы гидроксаматных сидерофоров, в частности десферроксамина E. Десферриоксамины представляют собой гидроксаматные сидерофоры, широко распространенные как в водных, так и в почвенных актинобактериях. Были также обнаружены локусы RIPP-подобного белка (локализация: 258.529 – 269.329) и поликетидсинтазы III типа ТЗРКС (локализация: 274.482 – 315.792). С использованием программы Bagel4 в геноме MG-1 был обнаружен гипотетический ген бактериоцина Linocin-M18.

Таким образом, в геноме *B. sediminis* MG-1 были обнаружены гипотетические генные кластеры, которые связаны с ростостимулирующими свойствами бактерии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-316-90047.

ВЛИЯНИЕ СУММАРНОЙ ФРАКЦИИ ЛИПОПЕПТИДОВ *B. SUBTILIS* GM5 НА ФОРМИРОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Г. Ф. Лутфуллина, А. А. Николаева, А. М. Марданова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
g.h95@mail.ru

Кишечные микробы играют ключевую роль в энергетическом метаболизме цыплят-бройлеров, участвуют в развитии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Метагеномный анализ микробиоты ЖКТ позволяет найти подходы для улучшения роста и продуктивности цыплят путем введения диеты на основе полезных бактериальных штаммов или их вторичных метаболитов. Целью данной работы являлась характеристика структуры и динамики формирования бактериальной микробиоты слепого кишечника цыплят-бройлеров, получавших кормовую добавку из липопептидов *Bacillus*.

Модельные эксперименты на цыплятах-бройлерах проводили в условиях фермерского хозяйства «Лачен». Для эксперимента из местного коммерческого инкубатора были получены 60 суточных цыплят-бройлеров кросса Кобб 500. Первая группа (30 цыплят) получала полнорационный комбикорм, вторая (30 цыплят) – вдобавок к комбикорму суммарную фракцию липопептидов *Bacillus subtilis* GM5 с 1 по 35 сутки. Суммарную фракцию липопептидов выделяли по методу кислотного осаждения из бесклеточной среды культивирования штамма *B. subtilis* GM5. Высушенный порошок липопептидов вносили в комбикорм механическим перемешиванием в количестве 10–50 мг на 1 кг корма. Все эксперименты с цыплятами проводились с соблюдением биоэтических норм. Для умерщвления из контрольной и опытной группы случайным образом были отобраны по 3 цыпленка. Из каждого цыпленка в трех повторах было отобрано по 200 мг содержимого слепого кишечника для выделения геномной ДНК с использованием коммерческого набора QIAamp Fast DNA Stool Mini. Концентрацию и качество ДНК оценивали с помощью NanoDrop 2000 и гель-электрофореза. ПЦР проводили с использованием Q5 Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix и универсальных праймеров 341F (5-CCTACGGGNGGCWGCAG-3) и 805R (5-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3). Библиотеки, содержащие гены 16S рРНК, секвенировали на платформе MiSeq с использованием набора реагентов MiSeq v3 (Illumina). Анализ данных секвенирования проводили в программе «QIIME». Статистический анализ проводили с использованием двустороннего анализа ANOVA и t-критерия Стьюдента.

По результатам метагеномного анализа на 35 сутки роста в микробиоте слепого кишечника цыплят-бройлеров Кобб 500 контрольной и опытной групп были выявлены представители 14 бактериальных фил. Показано, что в слепом кишечнике цыплят доминируют бактерии филы *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Доля бактерий филы *Firmicutes* достоверно различалась между группами и достигала 49,326±6,949% в контрольной, 33,074±1,592% в опытной группе ($p<0,05$). Доля бактерий филы *Bacteroidetes*, напротив, была выше на 23% в опытной группе (46,420±1,887%) по сравнению с контрольной группой (37,644±5,714%). Еще сильнее различались микробиоты цыплят обеих групп по представленности бактерий фил *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Количество бактерий филы *Actinobacteria* (2,146±1,100%) было в 5 раз выше в опытной группе по сравнению с контрольной группой (0,426±0,211%) ($p<0,05$). Доля филы *Proteobacteria* также достоверно была выше (в 3 раза) в опытной группе (6,786±1,349%) по сравнению с контролем (2,014±1,706%) ($p<0,05$). Количество бактерий филы *Synergistetes* также было выше в 10 раз в опытной группе по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$). Доля бактерий *Euryarchaeota*, напротив, была выше в 2 раза в контрольной группе (4,455±2,597%) по сравнению с опытной группой (2,100±0,993%), однако значения различались не достоверно. Таким образом, показано, что кормовая добавка на основе суммарной фракции липопептидов штамма GM5 влияет на качественный и количественный состав бактериальной микробиоты слепого кишечника цыплят-бройлеров Кобб 500.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-34-90130.

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ, БОЛЬНЫХ И ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19

А. А. Ляхова, К. О. Зувев, И. Н. Калашиников, С. С. Пластинина, Е. В. Макарова, Н. Ю. Любавина, М. Ю. Милюткина, Е. Ю. Ашина

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1; zuev-kirya@list.ru

На сегодняшний день инфекция COVID-19, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2, нанесла колоссальный урон здоровью человечества и унесла жизни миллионов людей по всему миру. В ходе данной инфекции развивается системное воспаление, что сопровождается развитием тяжелых осложнений и обострением сопутствующих заболеваний. Согласно литературным данным, при воспалении лейкоциты (базофилы, макрофаги, лимфоциты) генерируют избыточное количество свободных радикалов (СР) и активных форм кислорода (АФК), что изменяет концентрацию антиоксидантов в организме и приводит к развитию окислительного стресса. СР и АФК, в свою очередь, могут повреждать молекулы ДНК. Например, реакция гидроксильного радикала с дезоксирибозой сахарофосфатного остова молекулы ДНК приводит к одно- и двунитевым разрывам в этой молекуле. В ходе пандемии были достигнуты определенные успехи в лечении острых форм инфекции, но при этом механизмы возникновения и развития заболевания остаются малоизученными, что создаёт дополнительные трудности при разработке реабилитационной терапии.

Цель работы – оценить уровень повреждений ДНК лейкоцитов периферической крови пациентов, находящихся в острой фазе инфекции, а также тех, кто уже переболел COVID-19.

Материал и методы. В исследование было включено 24 пациента в возрасте от 34 до 73 лет, переболевших COVID-19, и 16 пациентов от 43 до 89 лет в острой форме заболевания. Группу контроля составили 14 условно здоровых добровольцев соответствующего возраста. Количественную оценку степени повреждений ДНК лейкоцитов крови проводили путем определения процента повреждений ДНК (ТДНК%) методом «Комета-тест» (Сирота, Кузнецова, 2010 в модификации Чернигиной, Щербатюк, 2016). Статистический анализ проводили с использованием методов непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$). Данные представлены в виде медианных значений.

В ходе исследования установлено, что показатель уровня повреждений ДНК в группе пациентов, находившихся в острой фазе COVID-19 (ТДНК%=3,38) статистически значимо не отличается от данного показателя в группе условно здоровых волонтеров (ТДНК%=3,49), а пациенты, переболевшие COVID-19, имеют более высокий уровень повреждений ДНК (ТДНК%=4,67) в отличие от группы контроля (ТДНК%=3,38), $p=0,03$.

Проведена оценка уровня повреждений ДНК пациентов, находящихся в остром периоде инфекции COVID-19, а также выздоровевших пациентов. Выявлено, что в острой фазе заболевания не наблюдается активизации механизмов повреждения ДНК, в отличие от периода после выздоровления. Установлено, что коронавирусная инфекция способствует увеличению степени повреждения ДНК именно в постковидный период, что, в свою очередь, может являться одной из причин развития осложнений, обострения сопутствующих заболеваний и увеличения времени реабилитации после выздоровления. В связи с этим можно предположить, что более ответственная коррекция гипоксических состояний организма во время лечения пациентов с COVID-19, а также включение в терапию препаратов, способствующих снижению активности процессов свободнорадикального окисления, способны в определенной степени облегчить течение заболевания и сократить восстановительный период после перенесенной инфекции.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ТКАНЕВЫХ МАКРОФАГОВ ЖИВОТНЫХ ПРИ ФИЗИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ И ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ РАКОМ ПЕЧЕНИ

М. Х. Маджид, И. П. Иванова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
motazhassan37@gmail.com

Тканевые макрофаги сохраняют гомеостаз организма. Изменение активностимакрофагов при физических или химических воздействиях, а также при неопластических процессах исследовано недостаточно. Поэтому исследование фагоцитарной активности различных тканей организма после физических, химических воздействий, а также при развитии патологических состояний позволит выявить ткани мишени и методы коррекции. Целью нашей работы был анализ фагоцитарной активности различных тканей мышей и крыс норм, после воздействия физическими факторами и с поздней стадией рака печени.

Объектом исследований явились кровь, головной мозг, костный мозг, печень, почка, селезенка и средний кишечник, полученные от мышей линии BALB и крыс линии Wistar. Исследования проводились в 2 этапа. На первом этапе изучалась фагоцитарная активность тканевых макрофагов мышей (10 шт. без воздействия). На втором этапе крысы (10 шт.) были разделены на 4 подгруппы: 1) воздействие ультрафиолетового излучения в течение 5 минут; 2) облучение газоразрядной плазмой в течение 5 минут; 3) крысы с поздней стадией экспериментального рака печени; 4) контрольные животные. Также было изучено влияние низкой температуры +4°C на активность макрофагов.

В полученных взвесах тканей исследовали люминол зависимую хемилюминесценцию коррелирующую с фагоцитарной активностью макрофагов с помощью прибора БХЛ-07. Готовили тестовый образец (с анализируемыми клетками) в следующих объемах и порядке: 250 мл взвеси клеток, 250 мл раствора Хинкса, 100 мл люминола, 50 мл латекса.

В исследовании было показано, что фагоцитарная активность тканевых макрофагов мышей выше в костном мозге, а затем в селезенке и низкие значения регистрировались в крови, почке и печени. Самые низкие значения фагоцитарной активности наблюдались в среднем кишечнике и головном мозге. Было показано, что фагоцитарная активность тканей крыс, самая высокая в костном мозге, а затем в селезенке, печени, крови, почке, головном мозге, и самая низкая в среднем кишечнике.

При сравнении результатов фагоцитарной активности тканей после хранения в течение 15–20 часов при 4 градусах показано, что активность всех тканей снижается, за исключением головного мозга. Установлено, что наибольшее время фагоцитарной активности было в клетках костного мозга, достигало 1,5 часа и в клетках селезенки – 40 минут. Некоторые ткани начинают фагоцитарную активность сразу после добавления латекса это селезенка и костный мозг, через 7–10 минут после добавления латекса кровь, печень и почки. Фагоцитарная активность клеток головного мозга возрастает после хранения в течение 15–20 часов при температуре +4°C. Активность клеток костного мозга и селезенки в большей степени выражена у мышей, чем у крыс.

СПЕРМИН-ИНДУЦИРОВАННАЯ АУТОФАГИЯ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ

А. Б. Мазина^{1,2}, С. А. Дмитриева², А. А. Пономарева², Д. Ф. Рахматуллина²,
Ф. В. Мунбаева^{1,2}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
abmazina@gmail.com

²Казанский институт биохимии и биофизики РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского 2/31

Аутофагия – это высококонсервативный катаболический процесс, направленный на удаление избыточных макромолекул и органелл. Аутофагия принимает участие в онто- и органогенезе, старении и программируемой гибели клеток. На данный момент актуальным становится поиск физиологических индукторов аутофагии для предотвращения и удаления токсичных последствий стрессового состояния клеток. Такими индукторами могут являться полиамины – низкомолекулярные азотсодержащие эндогенные соединения. Показано, что экзогенное применение полиаминов может продлевать жизнь различных модельных организмов за счет активации в клетках аутофагии, а генетическая инактивация аутофагических (*ATG*) генов снимает эффект «долгожителя». В связи с этим, целью настоящего исследования было изучение индукции и регуляции аутофагии в клетках корней пшеницы при действии полиамина спермина.

Интактные корни 4-дневных проростков пшеницы *Triticum aestivum* инкубировали в растворах спермина в концентрациях 1, 10, 100 мкМ в течение 3 ч. Было показано, что спермин в физиологических концентрациях (1 и 10 мкМ) индуцировал образование аутофагосом в клетках корней и способствовал увеличению уровня mRFP-ATG8с и транскриптов *ATG4/ATG6/ATG8* генов. Воздействие спермином приводило к повышению в клетках уровня оксида азота (NO), что подтверждалось характерным триплетным ЭПР спектром и интенсивным свечением флуоресцентного красителя DAF-FM. Кроме того, происходило накопление активных форм кислорода (АФК), что подтверждалось значительным повышением уровня H₂O₂ и увеличением флуоресценции DCFDA. Интересно, что уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) не изменялся. Спермин в высокой (100 мкМ) концентрации индуцировал образование LysoTracker-положительных конгломератов, что сопровождалось падением индекса мембранной стабильности, повышением уровня H₂O₂ и ПОЛ.

Важным механизмом регуляции аутофагии у растений при стрессовом воздействии является активация АМФ-зависимой протеинкиназы SnRK1, которая влияет на запуск аутофагических каскадов. Интересно, что в корнях пшеницы спермин в концентрациях 1 и 10 мкМ индуцировал аутофагию без снижения энергообеспеченности клеток, о чем свидетельствует высокий уровень $\Delta\Psi_m$, наличие энергизованных митохондрий и низкий уровень транскриптов *SnRK1*. В то же время спермин в высокой концентрации вызывал падение уровня $\Delta\Psi_m$, что сопровождалось изменением ультраструктуры митохондрий и снижением уровня поглощения кислорода. Можно полагать, что спермин-индуцированная аутофагия опосредуется метаболическими событиями, как зависящими, так и не зависящими от уровня АТФ. Полученные данные свидетельствуют о том, что в клетках растений полиамин спермин индуцирует аутофагию, которая опосредована повышенным образованием активных форм азота и кислорода. Можно предположить, что аутофагия вовлечена в защитные механизмы, запускаемые полиаминами в клетках растений при стрессе.

Работа проводилась в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН и РФФИ № 20-34-90042.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТОРФЯННОГО СУБСТРАТА, ПРОШЕДШЕГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ОБРАБОТКУ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЕМ

Н. Д. Майоров, Д. И. Мухомтов

Поволжский государственный технологический университет, 424000, Йошкар-Ола,
пл. Ленина, 3; info@volgatech.net

Цель работы – изучить влияние микроволнового излучения на изменение температуры и массы торфа. Для успешного выращивания растений в условиях защищенного грунта необходимо особое внимание уделять микробиологической нагрузке субстрата. В современных тепличных комплексах используется стерильный субстрат, который в дальнейшем инокулируется полезной микробиотой. В настоящее время изучается возможность применения потока электромагнитной энергии сверхвысокой частоты (СВЧ) при стерилизации различных по составу и структуре материалов. Результаты воздействия СВЧ излучений на микроорганизмы в разных средах противоречивы, в связи с чем, целью работы было изучить воздействие различных режимов мощности и экспозиций СВЧ излучения на численность микроорганизмов низинного торфа.

Торф подходит для его использования в качестве субстрата, если удовлетворяет ряду условий или требований. Наряду с однородностью, влагоемкостью и воздухопроницаемостью он должен быть свободен от болезней и вредителей, то есть быть достаточно стерильным. Стерильность торфа прошедшего экспериментальную обработку СВЧ-излучением можно проверить с помощью микробиологического анализа, а именно оценить количество микроорганизмов в субстрате.

В данной работе проводился косвенный метод оценки количества микроорганизмов по методу Коха. Он основан на принципе посева небольших объемов суспензии и, в трех разведениях, на чашки Петри с плотной питательной средой. В результате разведения в растворе остается небольшое количество клеток бактерий и грибов, из которых вырастают изолированные колонии. Каждая изолированная колония является потомством одной клетки, соотношение количества колоний с количеством клеток дает представление о количестве жизнеспособных микроорганизмов. Посев микроорганизмов проводился в асептических условиях при помощи шпателя Дригальского на среды Чапека и питательный мясопептонный агар Nutrient agar/МПА в трех повторностях. Чашки с засевами помещались в термостаты с разными температурными режимами. Грибы проращивали на среде Чапека при температуре 36°C, бактерии на Nutrient agar при температуре 37°C.

В результате были получены следующие результаты: до обработки количество микроорганизмов составляет $2,8 \cdot 10^7$ КОЕ, причем соотношение грибов и бактерий в данном образце почти одинаковое; после обработки торфяного субстрата СВЧ-излучением мощностью 800 Вт, длительности 4 мин количество микроорганизмов (грибов) составило $1,2 \cdot 10^5$ КОЕ, бактерий не обнаружено.

Таким образом, мы выяснили, что обработка торфяного субстрата СВЧ-излучением напрямую влияет на его микробиологический состав и снижает количество микроорганизмов, обеспечивает его обеззараживание.

Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБУ «Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» в рамках программы У.М.Н.И.К. № 16172ГУ/2020.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХВОИ *PINUS SYLVESTRIS* СПУСТЯ 35 ЛЕТ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Е. С. Макаренко, М. А. Лыченкова

Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Обнинск, Киевское шоссе, 109-й км; makarenko_ek_obninsk@mail.ru

Отдаленные последствия аварии на Чернобыльской АЭС представляют интерес до настоящего времени. Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является одним из наиболее часто используемых объектов биомониторинга в радиобиологии, так как радиочувствительна и включена Международной комиссией по радиологической защите в число референтных биологических видов, на которых базируется современная концепция радиационной защиты окружающей среды. В первые годы после аварии был обнаружен широкий спектр морфологических изменений побегов и хвои, однако спустя десятилетия подобных исследований проведено недостаточно. Целью данной работы было изучение морфометрических показателей хвои сосны обыкновенной, произрастающей в ближней зоне ЧАЭС.

Импактные участки были выбраны на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника в Хойникском и Брагинском районах Гомельской области республики Беларусь. Контрольные участки расположены вне заповедника, на расстоянии около 70 км от ЧАЭС. Мощность амбиентного эквивалента дозы γ -излучения на высоте 1 м менялась на трех импактных участках от 0,25 до 9,85 мкЗв/ч, на двух контрольных участках – 0,10 мкЗв/ч. Удельная активность ^{137}Cs в хвое 2-го года составляла 495–58950 Бк/кг. Двухлетнюю хвою отбирали в 2021 г. с 11 деревьев на каждом участке. На 50 парах хвоинок изучали изменчивость хвои по длине и массе, индексы флуктуирующей асимметрии (ФА), частоту и степень поражения хвои некрозом.

Выявлено значимое превышение длины хвои *Pinus sylvestris* на наиболее радиоактивно загрязненном участке относительно обоих контролей. Обнаружена положительная корреляция между длиной хвои и мощностью амбиентного эквивалента дозы ($r = 0,93$; $p < 0,05$), удельной активностью ^{137}Cs в хвое ($r = 0,92$; $p < 0,05$). Масса хвои значимо выше на одном из контрольных участков, чем на другом. Зависимость массы хвои от изучаемых показателей радиационной нагрузки отсутствует.

Данные об измерениях хвои были использованы для оценки индексов ФА по длине и массе хвоинок. Индекс ФА, рассчитанный по массе, не имеет значимых отличий от контрольных значений. Индекс ФА по длине хвои на одном импактном участке значимо превышал уровень одного из референтных участков. Корреляционный анализ не выявил зависимости данного параметра от мощности амбиентного эквивалента дозы и удельной активности ^{137}Cs в хвое 2-го года.

Частота сильно пораженных некрозом хвоинок на большинстве радиоактивно загрязненных участков значимо выше обоих контролей.

Полученные в данной работе результаты по оценке длины и массы хвои, индексам флуктуирующей асимметрии, поражению хвои некрозом согласуются с полученными нами ранее. Например, значимое повышение индекса ФА по длине хвои сосны на импактных участках встречалось ранее как в районе Чернобыльской, так и Фукусимской АЭС. Однако, как и в данной работе, увеличение ФА обнаружено не на всех радиоактивно загрязненных участках.

Таким образом, даже спустя 35 лет после Чернобыльской аварии в популяциях *Pinus sylvestris* можно обнаружить морфологические изменения, связанные с радиационным воздействием.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-16-00004).

ВЛИЯНИЕ АСТРОЦИТАРНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА НА СИНХРОНИЗАЦИЮ В МОДЕЛИ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

С. Ю. Маковкин¹, С. Ю. Гордлева¹⁻³, М. В. Иванченко¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
makovkin@neuro.nnov.ru

²Университет Иннополис, 420500, Иннополис, ул. Университетская, 1

³Балтийский Федеральный университет им. И. Канта, 236041, Россия, Калининград,
ул. Александра Невского, 14

В данном исследовании изучено влияние астроцитов на формирование синхронизации в сети тормозных нейронов на частоте 21 Гц, соответствующей гамма-ритму. Для этого была предложена новая математическая модель нейрон-астроцитарной сети, которая топологически состоит из трех взаимодействующих ансамблей осцилляторов, которые представляют собой подсеть тормозных нейронов, подсеть астроцитов, а также ансамбль невзаимодействующих между собой возбуждающих нейронов. Каждый тормозный нейрон случайным образом соединен со своими 100 ближайшими соседями тормозящими химическими синапсами с вероятностью 0.5. Тормозные нейроны получают возбуждающие сигналы от возбуждающих нейронов, стохастическое срабатывание которых инициируется входящими случайными импульсами с распределением Пуассона с заданной частотой. Астроциты организованы в кольцевую сеть, повторяющую топологию сети тормозных нейронов. Каждый астроцит в предлагаемой модели соединен с соседними астроцитами через щелевые контакты.

В исследовании обнаружено, что астроцитарная регуляция передачи сигналов между нейронами увеличивает частоту синхронизации в сети тормозных нейронов и расширяет область когерентных осцилляций в пределах биологически значимых значений синаптической силы связи.

Астроцит-индуцированное ослабление тормозной силы связи приводит к снижению когерентности гамма-колебаний в сети тормозных нейронов во всех рассмотренных диапазонах параметров тормозной силы связи и частоты возбуждающих входов Пуассоновского воздействия на возбуждающие нейроны. Астроцитарное усиление тормозной силы связи расширяет область когерентных колебаний до диапазона более слабых сил связи, которые относятся к экспериментально определенному диапазону постсинаптических проводимостей.

Астроцит-индуцированное ослабление силы связи от возбуждающих нейронов к тормозным улучшает установление синхронизации в нейронной сети при физиологически-релеватных параметрах возбуждающих входных воздействий. В свою очередь, индуцированное астроцитами усиление возбуждающей силы связи приводит к снижению когерентности колебаний и может способствовать нарушению формирования синхронизации.

Кроме того, было изучено влияние астроцитарной регуляции на частоту сетевых колебаний. Астроцитарная регуляция тормозной силы связи в сети тормозных нейронов оказывает лишь минимальное влияние на частоту сети. Астроцитарное усиление возбуждающих сил связи в сети тормозных нейронов приводит к небольшому увеличению частоты колебаний сети, таким образом что ее частота становится близка к низкому диапазону гамма-ритма. Таким образом, астроцитарная модуляция синаптической передачи в предлагаемой модели не позволяет управлять частотой сети.

НАЧАЛЬНЫЕ СТАДИИ ОНТОГЕНЕЗА *EULOPHIA STREPTOPETALA* В АСИМБМОТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

А. А. Максимов, А. Е. Макарова, В. В. Сырова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
maksimovnn@mail.ru

Понимание репродуктивной биологии растений необходимо для успешного сохранения биоразнообразия. Для оптимизации существующих методик культивирования орхидных *in vitro* нужно знать биологию семян, строение и функции протокорма, стадии развития растения. Объектом наших исследований являлась *Eulophia streptopetala* – высокорослая наземная орхидея с удлинёнными псевдобульбами, несущими 4–7 ланцетных ребристых листьев, широко распространена в Зимбабве (успешно культивируется в Ботаническом саду ННГУ). Целью данного исследования являлось изучение ранних стадий онтогенеза *E. streptopetala*. В ходе работы ставились следующие задачи: посев и проращивание семян *in vitro*, описание начальных стадий развития и гистологическое наблюдение особенностей развития.

Коробочки, полученные в результате искусственного оплодотворения, взяты из Ботанического сада ИББМ ННГУ. Цельные, неповрежденные коробочки стерилизовались в 96% спирте с последующим прогревом в пламени горелки. Посев производился на агаризованную питательную среду Harvais с картофелем. Питательные среды стерилизовали в автоклавах под давлением пара 1–2 атмосферы при температуре 120°C в течение 30 мин. Емкости с посевами плотно закрывали пленкой для изолирования от микроорганизмов. Срезы протокормов и проростков окрашивались методом полихромной окраски по Михальцову (последовательно: 1% водный раствор альцианового синего, 1% раствор Родамина Б в 50% растворе спирта).

Начиная с девятой недели после посева, наблюдалось прорастание семян и образование протокормов. Через 8 месяцев начинал формироваться удлинённый одноосный побег с листьями. Развитие происходило как в одиночные проростки, так и в колонии проростков. Они были различных форм: в виде перевернутого конуса с широким основанием, шаровидные, веретеновидные удлинённые.

Гистологическое исследование развития показало, что примерно через 7 дней после формирования протокорма начинают зеленеть, пластиды обильно наполняются крахмалом. Клетки апикальной меристемы меньше по размеру и имеют большое отношение ядра к цитоплазме, а гранулы крахмала становятся менее многочисленными. Эти особенности четко отмечают структурную идентичность клеток апикальной меристемы. Наблюдались тяжёлые проводящих тканей, идущие от противоположного полюса протокорма к формирующейся апикальной меристеме. Клетки апикальной меристемы начинают разрастаться, постоянное увеличение количества периферических клеток меристемы приводит к образованию выпячивания в сторону эпидермального слоя. Апикальная меристема продолжает увеличиваться в размерах, окруженная развивающимся зачатком листа (листовыми примордиями). В ювенильном состоянии у растения появляются плотно свернутый в трубочку первый лист от 2 до 6 см и придаточный корень.

На ранних стадиях развития у *E. streptopetala* отмечается активное вегетативное размножение, каждый протокорм способен сформировать несколько хорошо развитых проростков, что характеризует высокий потенциал вегетативного размножения.

Таким образом, с 9 недели начиналось образование протокормов, через 8 месяцев развивались ювенильные растения. На гистологических срезах протокормов и проростков наблюдались разные стадии формирования первых листьев и усложнения проводящей системы.

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЭРИТРОЦИТОВ И ЛИПИДНЫМ СОСТАВОМ МЕМБРАН

М. Мандея, С. И. Пиняев

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, 430005, Республика Мордовия, Саранск, ул. Большевикская, 68; *mandeyamasimba83@gmail.com*

Препараты оксида азота в основном используются в качестве сосудорасширяющих средств и для улучшения доставки кислорода. Помимо нарушений гемодинамики, вызванных сердечной дисфункцией и компенсаторными реакциями в кровеносных сосудах, гипоксия тканей, наблюдаемая у пациентов с сердечными заболеваниями, может быть вызвана снижением эффективности транспорта кислорода эритроцитами. Измененная конформация гемоглобина (Hb) и структура липидной мембраны могут быть одной из важных причин этого нарушения транспорта O₂. Многие исследователи сообщают, что изменение конформации Hb привязано к внутренней поверхности мембраны эритроцитов и текучести мембраны, и, следовательно, мы полагаем, что изменения в конформации Hb и снижение сродства Hb к кислороду также могут быть вызваны повышенным содержанием оксида азота (NO), который может вызывать перекисное окисление липидов и изменять содержание фосфолипидов мембранного бислоя.

Для изучения влияния оксида азота на морфофункциональные характеристики эритроцитов и мембранные липиды эритроциты инкубировали в течение 1 часа при +37°C в 10⁻³ М и 10⁻⁷ М нитропруссиде натрия и нитроглицерине, донорах оксида азота. Спектроскопия комбинационного рассеяния позволяет изучать состояние атома железа и связанных с ним лигандов путем изменения структуры тетрапиррольного кольца гематопорфирина в Hb). Для анализа конфигурации Hb и его свойств связывания с O₂ были использованы следующие полосы спектров эритроцитов (указано положение максимумов): 1172, 1355, 1375, 1550, 1580, 1618, 1668 см⁻¹. Экстракцию мембранных липидов проводили по методу Блая и Дайера. Разделяли фосфолипиды в системе растворителей используя одномерную хроматографию: хлороформ/метанол/вода/аммиак (30/17/2/1).

Результаты наших исследований, а также данные литературы показывают, что NO оказывает влияние на распределение и сродство к O₂ гемоглобина в эритроцитах, это также показывает, что при высоких концентрациях NO возможно окисление мембранных липидов эритроцитов. 6 фракций фосфолипидов идентифицировано- лизофосфатидилхолин; сфингомиелин (СМ); фосфатидилсерин (ФС); фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилинозитол (ФИ) и фосфатидилэтаноламин (ФЭА), были идентифицированы из мембран эритроцитов, которые инкубировали в 10⁻⁷ М NO, в то время как 4 фракции, ФС; ФХ; ФИ; ФЭА, фосфолипидов были идентифицированы из мембран эритроцитов, инкубированных в 10⁻³ М.

ВЫЯВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ АКТИВНОСТЕЙ АСКОМИЦЕТА *OIDIODENDRON GRISEUM*

А. А. Марко¹, И. В. Стручкова¹, М. Н. Агеева^{1,2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
m896251074562@gmail.com

²ООО «Микофит», 606440, Нижегородская область, г. Бор, ул. Интернациональная, 56Б

Спектр и активность выделяемых грибами ферментов позволяет судить о характере питания этих организмов и их взаимодействиях с другими биологическими видами в экосистеме. Аскомицет *Oidiodendron griseum* широко распространен в хвойных лесах и на болотах северного полушария. Он часто выделяется из прикорневой зоны и корней вересковых растений, с которыми, по некоторым предположениям, способен образовывать микоризу. В то же время его роль в функционировании экосистем еще продолжает обсуждаться, а изучению выделяемых им соединений посвящены лишь единичные работы. Целью нашей работы стало выявление активности ряда экстрацеллюлярных ферментов и способности к растворению неорганических фосфатов у *Oidiodendron griseum* Robak VKM F3860.

Грибные колонии, посаженные уколом или штрихом, выращивали в течение 5 суток при температуре $+25\pm 2^\circ\text{C}$ на агаризованных питательных средах, в состав которых вводили различные индикаторные соединения: коровье молоко (до конечной концентрации 35% по объему) – при выявлении протеолитической (казеинолитической) активности, твин-40 (до конечной концентрации 1%) – при выявлении липолитической активности, таниновая кислота (до конечной концентрации в питательной среде 0,5%) и тетраметилбензидин (ТМБ) (до конечной концентрации 0,1%) – при выявлении оксидазной активности. Для выявления фосфатсолубилизирующей активности в среду добавляли неорганический фосфат кальция. Если гриб выделял в среду ферменты (или комплекс соединений, солубилизирующих фосфат кальция), то выросшие колонии были окружены зоной, отличающейся по цвету или прозрачности от основного объема среды из-за наличия в этой зоне продуктов ферментативной реакции. Более широкая зона соответствовала большей активности. В качестве объекта сравнения использовали *Aspergillus niger* van Tieghem VKMF-1119 с неоднократно описанными ранее протеазной активностью и способностью солубилизировать фосфаты благодаря обильно выделяемым органическим кислотам. Опыты проводили не менее чем в трехкратной повторности.

У *O. griseum* обнаруживались зоны более прозрачные, чем основная среда, если гриб рос на питательной среде с добавлением молока или фосфата кальция. Ширина зоны просветления в первом случае превышала зону, образованную *A. niger*, в 2,6 раза, а во втором случае – была меньше, чем у *A. niger* в 1,6 раза. На питательных средах с твином, таниновой кислотой или ТМБ зон окрашивания или просветления среды не наблюдалось.

Полученные результаты позволяют заключить, что *Oidiodendron griseum* Robak VKM F3860 обладает экстрацеллюлярной протеазной (казеинолитической) и фосфатсолубилизирующей активностями, но не способен расщеплять липиды и окислять фенольные субстраты.

Работа частично выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (договор № 3993ГСИ/65535).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТРИЦИКЛИЧЕСКИХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ И ОЦЕНКА ИХ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

*О. А. Махмудова¹, В. Н. Хазиахметова¹, Э. П. Медянцева¹, М. А. Зиганшин¹,
Д. В. Брусницын¹, Э. Р. Газизуллина¹, А. Р. Мустафина², С. В. Федоренко²,
Ю. Г. Елистратова²*

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; *odina_24@mail.ru*

²Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН, 420088, Казань, ул. Академика Арбузова, 8

Фармацевтические препараты представляют собой потенциально опасную группу химических загрязнителей. Большинство очистных сооружений водоснабжения не способны инактивировать лекарственные препараты из сточных вод. Следовательно, остатки фармацевтических препаратов обнаруживаются во многих экосистемах. В исследованиях, проведенных во Франции, подтвердилось наличие в пресной воде противосудорожного препарата производного бензодиазепаина – карбамазепина и его метаболитов. В Германии в реке Дунай исследования по обнаружению органических загрязнителей также показали наличие в воде карбамазепина, сульфаметоксазола и диклофенака. В Испании в реке Энарес-Харама-Тахо были найдены флуоксетин и пароксетин.

Материалы и методы исследования: были исследованы пробы воды, общее число порций - девять, которые были взяты из трех источников. Источником первой пробы служит оз. Нижний Кабан, Казань, Респ. Татарстан, *55.773759, 49.126195*. Второй источник – р. Казанка, Казань, Респ. Татарстан, *55.819405, 49.166073*. Третий источник – р. Волга, Казань, Респ. Татарстан, *55.787879, 49.090653*. Сбор проб проводилось в июне 2021 г.

Наличие амитриптилина определяли с помощью амперометрического иммуносенсора на основе печатных графитовых электродов, модифицированных оксидом графена в аминоксидном на платформе полиэфирополиола второго поколения в сочетании с кластерами рения. В отличие от хроматографических методов, которые обладают рядом недостатков, в том числе и длительной пробоподготовкой, иммуносенсоры в свою очередь обладают экспрессностью, высокой чувствительностью, селективностью, практически не требуют пробоподготовки и являются мобильными, что позволяют проводить анализ непосредственно на месте в полевых условиях.

В амперометрическом иммуносенсоре регистрация аналитического сигнала осуществлялась дифференциальной импульсной вольтамперометрией в диапазоне потенциалов от 0 до 1000 мВ при скорости сканирования 10 мВ/с. Аналитические возможности амперометрического иммуносенсора для определения амитриптилина показали, что область рабочих концентраций изменяется в диапазоне от $1 \cdot 10^{-10}$ до $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, нижняя граница определяемых концентраций на уровне $4 \cdot 10^{-11}$ моль/л.

При анализе проб воды из объектов окружающей среды на содержание трициклического антидепрессанта амитриптилина было установлено его наличие в концентрации на уровне $2 \cdot 10^{-9}$ моль/л во всех пробах. Правильность полученных результатов подтверждена сопоставлением электрохимического метода (амперометрический иммуносенсор) с оптическим методом (поляризационный флуоресцентный иммуноанализ – ПФИА). Таким образом, с помощью амперометрического иммуносенсора установлено наличие в пробах воды из водных объектов Казани трициклического антидепрессанта на уровне $2 \cdot 10^{-9}$ моль/л, что требует дальнейшей изучения экологической значимости такого загрязнения.

ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММОВ *E. COLI* – ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ВИРУСА ЕСНО30 (E30)

Д. А. Мелентьев^{1, 2}, В. В. Мохонов², Е. В. Мохонова², В. А. Лапин^{1, 2}, Д. Е. Зайцев^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *dim-melente@yandex.ru*

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

Энтеровирусы – это безоболочечные РНК-содержащие вирусы, входящие в семейство Picornaviridae, род *Enterovirus*. Одним из самых серьезных энтеровирусных заболеваний является серозный менингит, составляющий около 70% всех нейроинфекций в детской практике. По данным Нижегородского референс-центра по мониторингу за энтеровирусными инфекциями, с 2000 г. на территории Российской Федерации зафиксировано несколько эпидемических подъёмов заболеваемости энтеровирусной инфекцией с клиникой серозного менингита, при этом наибольшую заболеваемость обуславливал вирус ЕСНО30 (E30, Энтеровирус В). По сравнению с менингитом, вызванным неполиомиелитными энтеровирусами других типов, инфекция E30 протекает в среднем тяжелее и длительнее.

В настоящее время много разработок направлено на создание средств вакцинопрофилактики против энтеровирусов – возбудителей экзантемных заболеваний (энтеровирус А71, коксаки А6, А10 и А16). Тем не менее, сообщений о разработке вакцин против возбудителя серозного менингита вируса E30 не обнаружено. Социально-экономическая значимость E30 определяет необходимость разработки средств вакцинопрофилактики против вспышек ЭВИ, вызванных данным вирусом.

Целью работы стало получение штаммов *Escherichia coli* – продуцентов рекомбинантных белков вируса ЕСНО30.

В работе были применены методы работы с культурами бактериальных клеток, молекулярное клонирование нуклеиновых кислот, электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле и белков в полиакриламидном геле, аффинная хроматография, электронная микроскопия, иммуноферментный анализ. В ходе исследований были использованы нуклеотидные последовательности генов VP1 норовируса GII.4 (VP1n) и VP1, VP2 и VP3 E30 (VP1e, VP2e, VP3e) генотипов, циркулирующих на территории Нижегородской области.

Поверхностные белки вируса E30 были экспрессированы в клетках *E. coli* Rosetta 2 (DE3) с использованием 3 вариантов генетических конструкций. Рекомбинантные белки были очищены и использованы в качестве антигена для проведения иммуноферментного анализа.

Для создания химерных вариантов вирусоподобных частиц (ВПЧ) против ЕСНО30 в качестве платформы была использована вирусоподобная частица на основе структурного белка VP1n норовируса. Спроектировано и получено 3 вида белков для получения ВПЧ: VP1n–VP1e, VP1n–VP2e и VP1n–VP3e. С помощью метода электронной микроскопии было показано, что белок VP1n–VP1e способен формировать ВПЧ, содержащие на поверхности VP1e вируса E30. Установлено, что мономеры полученного химерного белка способны формировать сферические частицы, размером около 50 нм.

Показано, что полученные ВПЧ на основе VP1n–VP1e являются перспективным антигеном для разработки вакцины против эховирусной инфекции, так как белок VP1e содержит эпитопы для антител против E30.

**ПОДАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК *STREPTOCOCCUS SP.*
РАЗЛИЧНЫМИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИМИ ФЕРМЕНТАМИ**

***А. П. Мельник, Е. Ю. Трizza, Д. Р. Байдамшина, Л. Ф. Гафарова, О. В. Остолоповская,
А. Р. Каюмов***

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
amelnik200018@mail.ru

Бактериальные биопленки – поверхностно ассоциированные сообщества микроорганизмов, заключенных в полимерный матрикс, который они же и продуцируют. Площадь поверхности зубов, десен являются потенциальными местами колонизации широкого круга микроорганизмов, в том числе стрептококков – первичных колонизаторов. Поэтому разрушение сформированных биопленок, и подавление их образования является перспективным подходом к замедлению формирования зубного налета и предотвращения развития кариеса. Таким образом, целью данной работы было установить возможность подавления роста биопленок изолятов *Streptococcus sp.* различными ферментами.

На первом этапе работы была создана коллекция изолятов стрептококков. Для этого были взяты мазки из ротовой полости группы условно здоровых людей, которые высевали на кровяной агар. Далее изоляты с зоной частичного гемолиза рассевали до одиночных колоний, затем идентифицировали при помощи масс-спектрометрии.

На следующем этапе оценивали возможность подавления роста и образования биопленок *Streptococcus sp.* Субтилизином, Фицином и Папаином. Для этого бактерии выращивали в 96-луночной планшете в течение 24 часов при 37°C в присутствии исследуемых ферментов, после чего проводили оценку метаболической активности клеток по резазуриновому тесту. Ни один фермент не приводил к подавлению роста стрептококков, однако, при оценке подавления образования биопленок эффективность демонстрировал Субтилизин, в меньшей степени Фицин и Папаин.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда (№ 20-64-47014).

ВЛИЯНИЕ КВЧ-ТЕРАПИИ НА СОДЕРЖАНИЕ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В ПЛАЗМЕ И МОЧЕ КРЫС, БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЭНДОМЕТРИТОМ

А. Л. Менделева, С. В. Копылова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

kfg.unn@mail.ru

В структуре воспалительные заболевания органов малого таза, являющихся наиболее частой причиной нарушения женского здоровья, особое место занимает острый эндометрит. Данное заболевание сопровождается воспалительным процессом и эндогенной интоксикацией, для обнаружения которой используются методики определения молекул средней массы. Сегодня для лечения ВЗОРМ наряду с курсом антибиотиков применяют физиотерапию (КВЧ-терапию).

Работа осуществлялась на 45 беспородных самках крыс, животные были разделены на три группы: интактная группа; контрольная группа (животные с острым эндометритом) и опытная группа (животные с острым эндометритом, которые подвергались КВЧ-терапии). Использовались методы: моделирования острого эндометрита у крыс; определение уровня молекул средней массы в плазме и моче.

Установлено, что при остром эндометрите у крыс содержание молекул средней массы в моче и плазме крови при длинах волн 230 нм и 242 нм повысилось, преимущественно за счёт диеновых конъюгатов, мочевины, мочевой кислоты и креатинина. Коэффициент корреляции между мочой и плазмой у крыс интактной и контрольной групп был положительным, значит зависимость прямая, однако наблюдалось снижение коэффициента у животных с острым эндометритом относительно интактной группы. В плазме крови и моче крыс с острым эндометритом, подвергавшихся КВЧ-терапии, было выявлено уменьшение содержание данных молекул средней массы до уровня показателей интактной группы. При этом наблюдался рост коэффициента корреляции относительно интактной и контрольной групп. Это является доказательством целесообразного использования КВЧ-терапии при остром эндометрите.

Полученные результаты доказали высокую эффективность применения ЭМИ КВЧ для коррекции функционального состояния животных. Можно сказать, что КВЧ-терапия благодаря локальному воздействию предотвращает образование новых свободных радикалов и поддерживает нативную конформацию белков мембран и ферментов.

ВЛИЯНИЕ ГРИБА *PHIALOCEPHALA FORTINII* НА СНАБЖЕНИЕ ФОСФОРОМ РАСТЕНИЙ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ

В. С. Мухеев, И. В. Стручкова, М. Н. Агеева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23
ООО «Микофит», Нижегородская область, Бор; *m896251074562@gmail.com*

В биотехнологии вересковых культур представляют интерес грибы-эндофиты, способные улучшить снабжение фосфором растение-хозяина. Одним из эндофитов, широко распространенных в корнях вересковых, являются грибы видового комплекса *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata*. В то же время спектр изолятов грибов этого комплекса с доказанной эффективностью невелик, а их биохимический потенциал слабо исследован.

Целью работы являлась оценка способности изолята *Ph. fortinii* гидролизовать органические фосфаты почв, а также изменять корневую архитектуру и накопление фосфора у растения-хозяина – клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon*).

В эксперименте по сокультивированию использовали маточную культуру изолята гриба *P. fortinii*, выделенного из корней дикорастущих вересковых и поддерживаемую на картофельно-декстрозном агаре. Способность гриба гидролизовать органические фосфаты почвы доказывали, определяя фитазную активность в культуральной жидкости на 21 сутки роста при pH реакционной среды 4,5. За единицу удельной активности фитазы (U) принимали количество мкг фосфора, высвобождаемого ферментом из фитата натрия за 1 минуту в расчете на 1 мг белка. Концентрацию фосфат-ионов определяли спектрофотометрически по методу Грайнера с помощью рабочего реактива, содержащего молибдат аммония, серную кислоту и ацетон, измеряя интенсивность развивающейся желтой окраски при длине волны 355 нм. Концентрацию белка в культуральной жидкости определяли методом Лоури.

Подселение *P. fortinii* проводили к размноженным *in vitro* растениям возрастом 2 месяца. Растения высаживали в пластиковые емкости, заполненные слоем стерильного торфяного грунта толщиной 6 см (35 г), в варианте «опыт» одновременно в толщу грунта на глубину 1,5 см вносили фрагменты краевой зоны колоний маточной культуры *P. fortinii* ($D=8$ мм). В контрольном варианте гриб не вносили. Растения культивировали в течение 6 месяцев в условиях естественного освещения, не допуская высыхания почвы. Начало инфицирования растений мицелием гриба устанавливали с помощью светлопольной микроскопии корней. По истечении срока сокультивирования измеряли длину и разветвленность корней и побегов, а также содержание фосфора в корнях и листьях растений по методу Грайнера после «мокрого» озоления по Чернавиной.

На 21 сутки культивирования фитазная активность маточной культуры *P. fortinii* составила 6,91 U. Инфицирование грибом растений клюквы произошло после пяти месяцев сокультивирования. По сравнению с неинфицированным контролем спустя 6 месяцев сокультивирования с *P. fortinii* и 1 месяц после инфицирования у растений: 1) возростала разветвленность и длина корневой системы (на 41% и на 17% соответственно), при этом у побегов не увеличивалась ни длина, ни разветвленность; 2) содержание фосфора увеличивалось (в корнях – на 24%, в листьях – на 50%).

Наличие фитазной активности у маточной культуры *P. fortinii* указывает на способность гриба высвобождать фосфор из органических компонентов почвы. Обнаруженное возрастание разветвленности и длины корней указывает на способность гриба изменять архитектуру корневой системы на более эффективную для поступления фосфора. Увеличение содержания фосфора в растениях при сокультивировании с *P. fortinii* доказывает способность гриба усиливать усвоение фосфора почвы растениями.

Работа частично выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (договор № 3993ГСИ/65535).

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И МЕХАНИЗМОВ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗЛИЧНОЙ МОЩНОСТИ ДОЗЫ НА ПРИМЕРЕ КУЛЬТУРЫ ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА A431

Д. С. Молодиова, С. С. Сороко, Н. Ю. Шилягина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
89087532503dasa@gmail.com

Ведущую позицию в структуре заболеваемости злокачественных новообразований занимают опухоли эпителиального происхождения. Одним из методов лечения опухолей данного вида является лучевая терапия, которая основана на локальном действии ионизирующего излучения (ИИ) на очаг опухоли, где происходят обратимые и необратимые повреждения клеточных структур. В связи с этим остро стоит вопрос о необходимости более глубокого понимания механизмов ответа клетки на действие ИИ с целью разработки стратегии модификации радиочувствительности в отношении опухолевых и нормальных тканей.

Целью данной работы был сравнительный анализ изменений клеточного цикла и механизмов клеточной гибели при действии корпускулярного ионизирующего излучения высокой (электроны высоких энергий) и низкой (бета-излучение) мощности в отношении культуры эпидермоидной карциномы человека A431.

Для моделирования излучения высокой мощности использовали линейный ускоритель Novalis Tx (Varian, США) с мощностью дозы 10 Гр/мин, при моделировании излучения низкой мощности дозы – бета-эмиссионные закрытые препараты Sr-⁹⁰, с мощностью дозы 1,5 Гр/ч (НТЦ Амплитуда, Россия). Доза облучения составила 8 Гр, анализ проводили через 24 часа после воздействия.

Оценку соотношения фаз клеточного цикла и анализ механизмов клеточной гибели клеток проводили методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре CytoFLEX S (Beckman Coulter, США) с использованием протоколов производителей коммерческих наборов Cycletest™ Plus DNA Reagent Kit (BD Biosciences, США) и Dead Cell Apoptosis Kit with Annexin V FITC and PI (Invitrogen, США), соответственно.

Нами было показано, что через 24 часа после воздействия излучения высокой мощности ответ клеток A431 проявляется в изменении соотношения фаз клеточного цикла в сторону увеличения количества клеток, находящихся в фазе G2/M, что, по всей видимости, свидетельствует о начавшемся радиационном блоке митозов. В случае воздействия излучения низкой мощности подобной закономерности выявлено не было. Следует отметить, что через 24 часа, как в случае излучения низкой, так и в случае высокой мощности дозы, изменения количества живых и мертвых клеток по сравнению с контролем не наблюдалось.

Таким образом, нами было показано, что через 24 часа как в случае воздействия ИИ высокой мощности, так и в случае воздействия ИИ низкой мощности не зарегистрировано клеточной гибели, что, по всей видимости, может быть связано с превалирующим действием в радиационном поражении клеток к этому времени цитостатических эффектов (блокирование митоза) над цитотоксическими.

Работа выполнена в рамках Госзадания Минобрнауки России № 0729-2020-0061

РАЗРАБОТКА ГЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ААВ9 И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МЕТАХРОМАТИЧЕСКОЙ ЛЕЙКОДИСТРОФИИ

*А. И. Муллагулова, А. А. Шаймарданова, Я. О. Мухамедшина, Ш. С. Исса,
И. Р. Нигметзянов, Д. С. Чулпанова, В. В. Соловьева, М. А. Сергеев, А. А. Костенников,
И. М. Ганиев, А. А. Ризванов*

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

Метахроматическая лейкодистрофия (МЛД) – аутосомно-рецессивное наследственное нейродегенеративное заболевание, характеризующееся поражением миелиновой оболочки, покрывающей большинство нервных волокон центральной (ЦНС) и периферической нервной системы (ПНС). МЛД возникает вследствие дефицита лизосомного фермента арилсульфатазы А (ARSA), из-за различных мутаций в гене ARSA. Целью данной работы является разработка генного препарата на основе рекомбинантного адено-ассоциированного вируса 9 серотипа (AAV), кодирующего ген ARSA человека.

В работе была получена плазмидная конструкция pAAV-ARSA, кодирующая лизосомный фермент ARSA. Функциональность полученных плазмидных конструкции подтверждали с помощью трансфекции HEK293T. Через 48 часов после трансфекции в лизате генетически модифицированных клеток HEK293T анализировали ферментативную активность ARSA с использованием субстрата pNCS (Кат. №7251, Merck). Наличие ARSA в генетически модифицированных клетках определяли с помощью вестерн-блот анализа. Адено-ассоциированные вирусы AAV-ARSA получали с помощью набора AAV helper-free system (Кат. №240071, Agilent technologies).

Далее полученный препарат вводили мини-пигам двумя способами: 1) интратекально ($1 \cdot 10^{12}$ на кг); 2) внутривенно ($3,77 \cdot 10^{13}$ на кг). В каждой группе было по 3 свиньи, результаты сравнивали с группой интактных животных. Динамическую активность ARSA анализировали в спинномозговой жидкости (СМЖ) и образцах плазмы. Органы ЦНС использовали для анализа экспрессии ARSA с использованием количественной ПЦР и иммуногистохимического анализа (ИГХ). В сыворотке крови анализировали изменения АЛТ, АСТ, билирубина, креатинина-*J*. Ферментативную активность ARSA смотрели в плазме, СМЖ, в гомогенате органов ЦНС животных с помощью pNCS (#N7251, SIGMA). Вестерн-блот и ИГХ проводили с использованием моноклональных антител к ARSA (#MAG619HU21, Cloud-Clone Corp).

Повышение активности ARSA в плазме обнаружено и в первой (до 26%) и во второй группе животных (на 20–124%). В СМЖ повышение активности ARSA обнаружено только в первой группе (на 13–74%). В гомогенатах органов ЦНС также обнаружено повышение активности ARSA в обеих группах. Наличие мРНК и белка ARSA в ЦНС подтверждали с помощью кПЦР и ИГХ. Биохимический анализ показал снижение уровня АСТ во второй группе.

Таким образом, мы показали, что после внутривенного и интратекального введения AAV9-ARSA достигает ЦНС и приводит к сверхэкспрессии ARSA.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ ШУМАНОВСКОГО ДИАПАЗОНА НА РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМ, ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ

Н. С. Мшенская, М. А. Гринберг, М. А. Мудрилов, Е. Н. Громова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tasya.mshanka@yandex.ru

Электромагнитные излучения (ЭМИ) являются важным физическим фактором окружающей среды, воздействующим на живые организмы в течение всей их жизни. В связи с этим, влияние экстремально низкочастотных электромагнитных излучений с частотами, близкими к вариациям геомагнитного поля, на живые объекты стала актуальной темой в современной биологии. Биологическая мембрана вовлечена в работу сигнальных систем и весьма уязвима к повреждающим воздействиям. Для понимания механизмов воздействия ЭМИ на растения, необходимо детальное изучение мембраносвязанных процессов, таких как редокс-метаболизм, фотосинтез и электрогенез. Целью работы стала оценка влияния электромагнитного излучения с частотой 14,3 Гц, входящей в диапазон резонанса Шумана на компоненты редокс-метаболизма, фотосинтетические процессы и светоиндуцированные электрические реакции в растениях пшеницы.

Растения пшеницы (*Triticum aestivum*) культивировали в режиме освещения день/ночь 16/8 ч при температуре +23°C. В эксперименте с кратковременным воздействием ЭМИ 14-дневные растения подвергали однократной обработке полем в течение 30 минут. В случае длительной экспозиции растения опытной группы выращивали в генераторе ЭМИ в течение 18 дней. Для создания ЭМИ с частотой гармоника шумановского резонанса 14,3 Гц использовали два коаксиально расположенных кольца Гельмгольца. После окончания экспозиции регистрировали основные параметры световых реакций фотосинтеза методом РАМ-флуориметрии, липидный состав клеток методом тонкослойной хроматографии, содержание МДА, активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, изоферментный состав СОД с помощью нативного электрофореза, светоиндуцированные электрические реакции индуцировали синим светом и регистрировали при помощи макроэлектродной техники.

ЭМИ с частотой 14,3 Гц при кратковременном воздействии увеличивало активность каталазы по сравнению с контролем на 62%, остальные компоненты редокс-метаболизма (активность и изоферментный состав СОД, содержание МДА и липидный состав мембран) не реагировали на данные воздействия как при кратковременной так и при хронической обработке. Короткая и длительная обработки ЭМИ с частотой резонанса Шумана 14,3 Гц оказали существенное влияние на световую стадию фотосинтеза, вызывая увеличение эффективного квантового выхода и снижение величины нефотохимического тушения флуоресценции, что указывало на активацию процессов световой стадии фотосинтеза. ЭМИ увеличивало амплитуду электрических реакций пшеницы – индуцированной светом гиперполяризации клеточных мембран, при этом повышение либо понижение концентрации внешнего кальция значительно изменяло амплитуду ответа.

Таким образом, выполненные исследования показали, что реализация эффектов электромагнитного излучения с частотой 14,3 Гц, входящей в диапазон резонанса Шумана, может быть связана с активностью кальциевых сигнальных систем и быстрыми перестройками редокс-метаболизма клеток. Основываясь на этом, можно предположить, что растения способны воспринимать колебания естественных слабых электромагнитных излучений и реагировать на них модуляцией электрических реакций на мембранах и первичной активацией ферментов, утилизирующих активные формы кислорода. При этом существенных системных перестроек метаболизма растений не происходит.

Работа выполнена при поддержке Соглашения с Правительством РФ № 075-15-2019-1892.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ «ВОЛГОГРАД/D(1L-5-6L) MGF110»

М. В. Нефедьева, И. А. Тутов

Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, 601125,
пос. Вольгинский Владимирской обл., ул. Академика Бакулова, 1; *masha67111@mail.ru*

В последние годы африканская чума свиней широко распространилась в странах Европы и Азии и стала одной из самых сложных проблем для свиноводства во всем мире. Большой сложностью в борьбе с АЧС является отсутствие эффективной вакцины. На сегодняшний день дизайн рекомбинантных вирусов АЧС с делециями одного или нескольких генов выглядит наиболее перспективным подходом к разработке вакцин. Недавние сообщения показывают важную роль мультигенных семейств, расположенных на концах генома. Интересная информация о потенциальной роли MGF 110 в патогенности вируса представлена при исследовании штамма «Эстония-2017». Эти штаммы были выделены от диких кабанов и имеют большую делецию в 5'-области генома, что приводит к потере большей части области MGF110. Весьма возможно, что делеции являются причиной того, что эти штаммы проявляют более низкий уровень патогенности при контрольном заражении домашних свиней. Другой возможной функцией членов MGF является регуляция процесса апоптоза, который может быть одним из механизмов уклонения от иммунитета.

Целью нашей работы являлось конструирование рекомбинантного вируса африканской чумы свиней Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110 с делецией генов мультигенного семейства 1L-5-6L.

В качестве родительского штамма был выбран «Волгоград/14с», так как он относится к наиболее распространенному генотипу II и адаптирован к культуре клеток COS-1. Вирус «Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110» с делецией шести генов (1L-5-6L) мультигенного семейства MGF110 (7004-10107) получен методом гомологичной рекомбинации с использованием набора Lipofectamine 3000 (Invitrogen, США). В результате появления флуоресценции зеленого флуоресцентного белка EGFP, встроенного в конструкцию вместо части генов MGF110, свидетельствовало о наличии рекомбинантного вируса АЧС. Затем проводили селекцию полученного вируса методом предельных разведений и бляшкообразования в культуре клеток COS-1. Результаты титрования показали, что инфекционная активность Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110 в клетках COS-1 на 3-й день после заражения составила $6,08 \pm 0,15$ lg TCID₅₀/см³ и $7,00 \pm 0,21$ lg TCID₅₀/см³ на 6-й день после заражения. Таким образом, можно сделать вывод, что делеция генов 1L-5-6L мультигенного семейства 110 не влияет на репликацию вируса *in vitro*.

Полученные результаты ПЦР с электрофоретическим детектированием показали отсутствие исходного родительского типа вируса Волгоград/14с в рекомбинанте Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110.

В данном исследовании мы продемонстрировали рекомбинантный вирус АЧС с делецией 1L-5-6L генов мультигенного семейства 110 (генотип II, серогруппа 8). В дальнейшей работе планируется изучить характеристики делеционного мутанта *in vitro* и *in vivo* по сравнению с родительским штаммом.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 22-24-00552.

ХАРАКТЕРИСТИКА АГРЕГАЦИОННЫХ И АДГЕЗИОННЫХ СВОЙСТВ *BACILLUS INTESTINALIS* GM2

А. А. Николаева, Г. Ф. Лутфуллина, А. М. Марданова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
azazel1212@rambler.ru

Адгезия к эпителиальным клеткам кишечника является важной предпосылкой для колонизации пробиотических штаммов в желудочно-кишечном тракте. Аутоагрегация пробиотических штаммов необходима для адгезии к эпителиальным клеткам кишечника, а способность к коагрегации может образовывать барьер, предотвращающий колонизацию патогенными микроорганизмами. Физико-химические характеристики клеточной поверхности, такие как гидрофобность, могут влиять на аутоагрегацию и адгезию бактерий к различным поверхностям. Адгезия к гексадекану (неполярному растворителю) указывает на гидрофобные/гидрофильные свойства поверхности бактерий.

Целью работы было исследование способности к аутоагрегации и коагрегации, а также характеристика гидрофобности пробиотического штамма *Bacillus intestinalis* GM2.

Бактерии культивировали в среде LB при +37°C. Клетки собирали центрифугированием, дважды промывали и ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS) до OD₆₀₀=0,3±0,05 (10⁷-10⁸ КОЕ/МЛ). Суспензию клеток (4 мл) перемешивали в течение 10 с и инкубировали при комнатной температуре 24 часа. Оптическую плотность (A) 0,2 мл верхней суспензии измеряли при 600 нм. Процент аутоагрегации выражали как: 1-(A_t/A₀)·100, где A_t - оптическая плотность в момент времени t = 4, 8 и 24 час, а A₀ - оптическая плотность в 0 час. При анализе коагрегации метод приготовления бактериальной суспензии был таким же, как и при анализе аутоагрегации. Для оценки гидрофобности к 2 мл суспензии *B. intestinalis* GM2 добавляли 2 мл ксилола, две фазы перемешивали в течение 1,5 мин, оптическую плотность водной фазы измеряли через 30 минут. Средство к углеводам (гидрофобность) выражали в процентах адгезии по формуле: [(I - A) / A₀] · 100, где A₀ и A – оптическая плотность до и после экстракции органическим растворителем. Для коагрегации равные объемы (1,5 мл) каждой клеточной суспензии смешивали попарно путем встряхивания в течение 10 с. Одновременно ставили контрольные пробирки, содержащие по 3 мл каждой взвеси бактерий отдельно. Поглощение (A) при 600 нм измеряли сразу после перемешивания и на 24 ч инкубации при комнатной температуре. Процент коагрегации рассчитывали по формуле: [(A_{pat} + A_{probio})/2 - (A_{mix})/(A_{pat} + A_{probio})]·100, где A_{pat} и A_{probio} представляют собой A₆₀₀ отдельных бактериальных суспензий в контрольных пробирках в 0 час, а A_{mix} представляет собой абсорбцию смешанной бактериальной суспензии.

B. intestinalis GM2 показал способность к аутоагрегации с 21,5±8,2% на 4 час, 32,9±6,09% на 8 час и 64,6±5,3% через 24 часа. В большинстве случаев способность к агрегации связана с адгезивными свойствами клеток. Коагрегационную способность тестировали с использованием *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. Наиболее эффективно *B. intestinalis* GM2 коагрегировали с клетками *B. cereus* и *S. aureus* через 4 ч инкубации, а также с *B. cereus* через 24 часа инкубации. Процент коагрегации на 4 час инкубации для *B. cereus* составил 37,9±2,5%, для *S. aureus* – 37,7±1,2% и для *E. faecalis* – 12,1±0,3%. Через 24 ч процент коагрегация GM2 достигал 70,2±1,7% (для *B. cereus*), 58,7±3,8% (*S. aureus*), 42,8±8,4% (*E. faecalis*). Гидрофобность клеток GM2, выраженная в проценте адгезии к гексадекану (неполярному растворителю), составила 9,9±7,3%, что указывает, в целом, на более гидрофильные свойства поверхности бактерий, что может быть связано с присутствием полисахаридов на клеточной поверхности. Таким образом, *B. intestinalis* GM2 обладает высокой способностью к аутоагрегации и способен к коагрегации с потенциальными патогенами.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-34-90130.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВИРУСА ГЕПАТИТА В СРЕДИ УСЛОВНО ЗДОРОВОГО НАСЕЛЕНИЯ НИЖНЕГО НОВГОРОДА В 2018–2021 ГГ.

А. А. Новоселова^{1,2}, А. В. Полянина²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
novoselovaaa98@mail.ru

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

Гепатит В (ГВ) является одной из важнейших проблем здравоохранения во всем мире. В настоящее время отмечается снижение выявляемости острых форм ГВ (ОГВ), что связано с эффективной специфической профилактикой инфекции. Вместе с тем показатели распространенности хронического ГВ (ХГВ) остаются достаточно высокими, что требует динамического наблюдения за инфекцией для оценки эпидемиологической ситуации в разных регионах мира.

Целью настоящего исследования являлась оценка распространенности маркеров вируса гепатита В (ВГВ) среди условно здорового населения Нижнего Новгорода в 2018–2021 гг.

Материалом для исследования послужили образцы сывороток крови ($n=32702$), полученные от взрослого условно здорового населения Нижнего Новгорода за период с 2018 до 2021 г. Определение серологических маркеров ВГВ (HBsAg, HBeAg, anti-HBeIgG, anti-HBcore IgM и anti-HBcore суммарные) проводили методом ИФА с использованием коммерческих тест-систем производства АО «Вектор-Бест» (р.п. Кольцово, Новосибирская обл.). Экстракцию ДНК ВГВ проводили с использованием набора «МАГНО-сорб» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва). Для определения наличия ДНК ВГВ методом ПЦР использовали набор «АмплиСенс HBV-FL». Генотипирование ДНК-позитивных образцов проводили с помощью набора «АмплиСенс HBV-генотип-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва).

При обследовании условно здорового населения за указанный период серологические маркеры ВГВ были выявлены у $1,3 \pm 0,1$ на 100 обследованных лиц, что позволяет отнести Нижний Новгород к территории с низкой активностью эпидемического процесса ГВ. Несмотря на выраженную тенденцию к снижению заболеваемости ОГВ как в России, так и в Нижнем Новгороде (с $0,6\text{‰}$ в 2018 г. до $0,35\text{‰}$ в 2020 г. и с $1,4\text{‰}$ до $0,3\text{‰}$ соответственно), показатели распространенности хронических форм данной инфекции остаются достаточно высокими. Среди доноров данные показатели колеблются от $0,2\%$ до $0,4\%$ в РФ и $0,04\%$ в Нижнем Новгороде. У $97,7 \pm 0,7\%$ ГВ-позитивных пациентов выявлен HBsAg в сочетании с другими маркерами инфекции (anti-HBcore суммарные у $99,5 \pm 0,3\%$, anti-HBeIgG у $98,1 \pm 0,6\%$). Значительно реже встречались HBeAg ($2,8 \pm 0,8\%$), свидетельствующий об активной репликации ВГВ, и anti-HBcore IgM ($5,6 \pm 1,1\%$), детектируемый в сыворотке крови на начальном этапе развития ГВ-инфекции или при обострении хронического течения. Сравнительный анализ возрастных групп показал, что наиболее часто серологические маркеры ВГВ определялись среди лиц 40–49 лет (от $1,5 \pm 0,3\%$ в 2018 г. до $2,6 \pm 0,4\%$ в 2021 г.), 30–39 лет ($1,0 \pm 0,3\%$ в 2018 г. до $1,2 \pm 0,3\%$ в 2021 г.) и старше 60 лет (от $1,2 \pm 0,2\%$ в 2018 г. до $1,3 \pm 0,2\%$ в 2021 г.). Наименьшие показатели распространенности маркеров ГВ-инфекции обнаруживались в возрастной группе 20–29 лет (от $1,0 \pm 0,4\%$ в 2018 г. до $0,7 \pm 0,3\%$ в 2021 г.). Стоит отметить, что ДНК ВГВ обнаруживалась у $67,6 \pm 3,3\%$ HBsAg-позитивных лиц. Среди HBsAg-негативных образцов ДНК ВГВ не детектировалась. В генотиповой структуре ВГВ, циркулирующего на территории Нижнего Новгорода, преобладал D-генотип ($74,8 \pm 3,9\%$), доля генотипа A составляла $3,4 \pm 1,6\%$. Доля негенотипированных образцов составила $21,8 \pm 3,8\%$, что возможно связано с низкой вирусной нагрузкой или редким для изучаемой территории генотипом вируса.

Таким образом, получены данные, свидетельствующие об интенсивной циркуляции ВГВ и наличии значительного числа источников данной инфекции.

АКУСТИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

Д. Д. Норкина, В. Ю. Спирина, К. Е. Скотникова, Т. А. Веселова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

dnorkina152@gmail.com

Повышение уровня глюкозы в крови может приводить к развитию различных осложнений, в том числе, нарушению гемореологии, как следствие, к гипоксии различных тканей и органов. Изучение реологических параметров клеток крови имеет важное значение для диагностики, мониторинга и профилактики различных осложнений, обусловленных гипергликемией. Акустическая интерферометрия эритроцитов позволяет точно, быстро и с затратой малого числа реагентов оценить упругие свойства эритроцитов в целом и их поверхности, а также способность клеток к агрегации. В связи с этим, цель представленной работы – исследование упругости и агрегации эритроцитов пациентов при высоком содержании глюкозы в крови акустическим методом и оценка возможности использования акустической интерферометрии эритроцитов в комплексной диагностике гипергликемии.

Материалами исследования служили образцы цельной крови пациентов с нормальным уровнем глюкозы в крови (контроль, 28 человек) и с гипергликемией (46 человек).

Концентрацию глюкозы в крови оценивали с использованием реагентов «ГЛЮКОЗА ДДС», содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) с помощью реагентов «ГЛИКОГЕМОТЕСТ». Акустические исследования упругости и агрегации эритроцитов проводили на акустическом анализаторе «БИОМ», основным узлом которого является ультразвуковой интерферометр постоянной длины. Упругость эритроцитов исследовали по изменению скорости распространения продольных ультразвуковых волн (в диапазоне частот 6–9 МГц) в цельной крови и плазме крови. Для оценки способности эритроцитов к агрегации изучали изменения акустического параметра (АКП) цельной крови в течение 240 секунд.

В исследованиях показано, что гипергликемия ($8,03 \pm 3,08$) сопровождалась активацией процессов гликирования белков, о чём свидетельствовало повышение содержания гликированного гемоглобина в крови пациентов ($7,63 \pm 2,71$).

Методом акустической интерферометрии обнаружена тенденция к повышению упругости эритроцитов (G) у пациентов с гипергликемией по сравнению с показателем у практически здоровых доноров. Показатель упругих свойств поверхности эритроцитов (G/Hb) при гипергликемии превышал таковой у пациентов с нормальным содержанием сахара в крови на 15%. Повышение упругости эритроцитов и накопление в клетках гликированного гемоглобина может приводить к гипоксическому повреждению тканей.

В крови пациентов с гипергликемией наблюдалась более быстрая агрегация эритроцитов по сравнению с таковой у пациентов с нормогликемией. При гипергликемии АКП снижался и достигал своего минимума в течение 20–50 секунд после начала измерения, в норме АКП снижался медленно, приближаясь к минимальным значениям к концу измерения (после 200 секунд). Повышение скорости агрегации эритроцитов может быть обусловлено снижением отрицательного поверхностного заряда клеток вследствие накопления гликированных белков в мембране эритроцитов.

Увеличение упругости и скорости агрегации эритроцитов при гипергликемии, по всей видимости, свидетельствует о микроциркуляторных осложнениях патологического состояния и показывает возможность использования акустической интерферометрии эритроцитов в комплексной диагностике гипергликемического синдрома.

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАЗМЕЩЕНИЕ СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА ВЕРХНЕЙ ЧАСТИ КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА (ПО ДАННЫМ 2020- 2021 ГОДОВ)

Е. С. Обедиев, ***В. С. Жихарев***, ***Д. Е. Гаврилко***, ***Г. В. Шурганова***

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
elizaveta-obedientova@yandex.ru

Районирование водохранилищ, в частности, водохранилищ Волги и Камы, проведено, преимущественно, по морфологическим, гидрологическим и другим характеристикам водоемов. Однако наибольший интерес представляет районирование на основе различий видовой структуры гидробионтов. Если для Горьковского и Чебоксарского водохранилищ задачи выделения и динамики сообществ гидробионтов, в том числе, зоопланктона, решены, то для Куйбышевского водохранилища подобные исследования не проводились. На основе метода многомерного векторного анализа проведено выделение сообществ зоопланктона и занимаемых ими акваторий верхней части Куйбышевского водохранилища.

Материалом для работы послужили пробы зоопланктона, отобранные в летний период 2020–2021 гг. на акватории верхней части Куйбышевского водохранилища (от плотины Чебоксарской ГЭС до г. Болгары). Пробы зоопланктона отбирали по стандартной методике.

В ходе исследования в 2020 г. в зоопланктоне верхней части Куйбышевского водохранилища было идентифицировано 50 видов, в 2021 г. – 67 видов, относящихся к 3 систематическим группам (Rotifera, Cladocera, Copepoda). Зоопланктон был представлен типичными для Куйбышевского водохранилища видами: *Daphnia galeata*, *D. cucullata*, *Euchlanis dilatata* и *Chydorus sphaericus*. В составе зоопланктона были идентифицированы также два трансконтинентальных вида-вселенца из Северной Америки – коловратка *Kellicottia bostoniensis* и веслоногий рачок *Acanthocyclops americanus*. Кроме того, обнаружены представители понто-каспийской фауны – веслоногие рачки *Eurytemora caspica*, *E. velox* и *HeterosCOPE caspia*, средиземноморской фауны – *Calanipeda aquaedulcis* и тропический азиатский веслоногий рачок *Thermocyclops taihokuensis*.

Кластерный анализ проб зоопланктона позволил выделить на исследованной акватории четыре сообщества зоопланктона, различающихся по видовой структуре. Акваторию от плотины Чебоксарской ГЭС до г. Волжск занимало сообщество зоопланктона, находящееся под непосредственным влиянием Чебоксарского водохранилища. Акваторию от г. Волжск до пос. Красновидово занимало переходное сообщество. На акватории Волго-Камского плеса располагалось камское сообщество. От пос. Красновидово и далее вниз по течению выделялся озерный зоопланктоценоз. Аналогичная картина пространственного размещения зоопланктоценозов наблюдалась в оба года наблюдений. В 2020 г. максимальное видовое богатство было зафиксировано в сообществе, находящемся под влиянием Чебоксарского водохранилища на акватории с большим количеством притоков. Однако в 2021 г. ввиду высокой водности самого водохранилища максимальное видовое богатство зафиксировано в переходном сообществе зоопланктона, которое, по всей видимости, могло стать экотонном в данный период.

Сходная картина пространственного размещения сообществ зоопланктона и различия видовой структуры выделенных сообществ зоопланктона в 2020 и 2021 гг. подчеркивает важность продолжения мониторинговых наблюдений, которые позволят выявить факторы, влияющие на динамику видовой структуры и пространственное размещение сообществ зоопланктона Куйбышевского водохранилища.

Исследование поддержано РФФИ в рамках научного проекта №20-34-90097 и Русским географическим обществом в рамках грантовых экспедиций «Плавающий университет Волжского бассейна» (проекты №07/2020-р и 17/2021-Р).

АНАЛИЗ РЕКОМБИНАНТНЫХ НОРОВИРУСОВ, НЕСУЩИХ ГЕН GII.P16 РНК-ЗАВИСИМОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ

С. В. Опарина^{1,2}, *Н. В. Енифанова*², *Н. А. Новикова*²

¹ Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
svetlanochka.o@mail.ru

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

Норовирус (сем. *Caliciviridae*, род *Norovirus*) – один из основных этиологических агентов острого гастроэнтерита человека и животных. Приобретение альтернативных РНК-полимераз путем рекомбинации является важным механизмом эволюции норовируса. Рекомбинация геномов различных штаммов норовирусов происходит преимущественно в месте соединения открытых рамок считывания, кодирующих неструктурные (ORC1) и структурные белки (ORC2 и ORC3). Анализ имеющихся в базе данных GenBank нуклеотидных последовательностей гена полимеразы норовирусов GII.P16 показал, что этот ген присутствовал в составе рекомбинантов с различной специфичностью капсидного белка, выявляемых в мире с 70-х годов прошлого века. Осенью 2016 г. в г. Нижнем Новгороде наблюдалось резкое возрастание частоты обнаружения норовирусов, которое совпало с появлением новых рекомбинантов GII.4_Sydney и GII.2 – с полимеразой GII.P16. Целью данной работы явился анализ рекомбинантных генотипов норовирусов, несущих ген РНК-зависимой РНК-полимеразы со специфичностью GII.P16, выявленных в г. Нижний Новгород и представленных в международной базе данных GenBank.

В исследование включено 403 последовательности генома норовирусов, циркулировавших на территории г. Нижнего Новгорода, а также 92 представленных в базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы MEGAX, филогенетический анализ проводили в программах BEAUti v1.10.4. и BEAST v1.10.4., с визуализацией результатов в программе FigTree v1.4.4.

Генотипирование нижегородских изолятов в период 2016–2021 гг. осуществляли путем секвенирования участка генома, включающего место соединения генов, кодирующих полимеразу (P) и белок капсида VP1. С помощью системы автоматического типирования *Norovirus typing tool 2.0*. установлено, что среди анализируемых последовательностей большинство являлись рекомбинантными. В изучаемый период доля генотипов с полимеразой GII.P16 составила 78,57% в сезон 2016-2017 гг., 84,52% – в 2017-2018 гг., 68,18% – в 2018-2019 гг., 60,38% – в 2019-2020 гг. и 43,29% – в 2020-2021 гг. В целом полимеразу GII.P16 содержали 245 изолятов (61% от всех типированных штаммов), имеющие ген VP1 генотипов GII.4, GII.2, GII.12, GII.13, которые распределились следующим образом: GII.4_Sydney2012[P16] – 51,02%, GII.2[P16] – 45,31%, GII.12[P16] – 2,04%, GII.13[P16] – 1,63%.

При построении филогенетического древа на основе нуклеотидных последовательностей участка гена полимеразы длиной 264 нуклеотидных оснований – последовательности норовирусов генотипов GII.4, GII.2 и GII.12, выявленные в 2015–2021 гг. в мире, сформировали отдельный кластер, в который вошли и нижегородские изоляты. Внутри кластера сформировались субкластеры, соответствующих типовой специфичности капсидного белка VP1 – GII.4, GII.2 и GII.12.

Анализ аминокислотных последовательностей показал наличие у представителей нового варианта гена полимеразы GII.P16, получившего глобальное распространение в мире с 2015 года, четырех замен (S293T, V332I, K357Q, T360A) по сравнению с более ранними штаммами. Эти замены находятся вблизи сайтов, отвечающих за ферментативную активность полимеразы, и могли повлиять на трансмиссивность вируса. Приобретение норовирусами с разными генотипами капсидного белка нового варианта гена полимеразы GII.P16, вероятно, обеспечило рекомбинантам определенные преимущества и создало предпосылки к их широкому распространению.

НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ И ИХ РЕЦЕПТОРЫ ПРИ ТРАВМЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА И МОДУЛЯЦИЯ ПОЛИФЕНОЛАМИ.

Я. С. Отряскин, В. М. Удалова, С. И. Пиняев

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева,
430005, Саранск, ул.Большевистская 68; *otryaskin.yaroslav@mail.ru*

Повреждения периферических нервов – распространенные травмы с широким диапазоном симптомов в зависимости от степени тяжести и пораженных нервов. В процессе, если поддержка нейротрофинов не будет получена, проксимальный сегмент быстро дегенерирует, и тело клетки погибнет. Поэтому исследования роста, развития и защиты нервных клеток семейством нейротрофических факторов представляют большую ценность с точки зрения фундаментальных и клинических исследований.

Полифенолы являются важной группой фитохимических веществ, которые в изобилии присутствуют в пище. Сообщается, что полифенолы обладают терапевтической ценностью при нейродегенеративных заболеваниях, гипертонии, и других сердечно-сосудистых заболеваниях, раке, воспалениях, диабете. Также известно, что они играют важную роль в профилактике различных видов рака, начиная от рака печени, простаты и колоректального и заканчивая лимфобластным лейкозом. Передача клеточных сигналов выживания важна для подавления механизма клеточной гибели и уравнивания передачи сигналов апоптоза в нервной системе.

Полифенолы, фенольные соединения, флаваноиды и терпены хорошо известны своей антиоксидантной активностью. Фенолы были определены как группа полифенолов, которые являются важным вторичным метаболитом, содержащимся в растениях. Именно они ответственны за антиоксидантное действие флаваноидов и их положительный эффект на множество заболеваний. Флаваноиды являются мощными антиоксидантами против свободных радикалов, и они описываются как поглотители свободных радикалов. Способность поглощения свободных радикалов главным образом приписывается высокой реактивности гидроксильных групп. Эта активность приписывается их способности донора водорода, и, несомненно, фенильная группа флаваноидов служит источником легко доступных атомов водорода.

Ресвератрол (3,4',5-тригидроксистильбен) представляет собой природный полифенол, обнаруженный в различных растительных объектах, винограде и красном вине, который естественным образом вырабатывается некоторыми растениями в ответ на повреждение или патогены. Ресвератрол обладает множеством полезных свойств для гомеостаза тканей головного мозга, связанных, главным образом, с его способностью улавливать свободные радикалы, индуцируя антиоксидантные пути и оказывая противовоспалительное действие.

Дигидрокверцетин (таксифолин) – это соединение, которое относится к флавоноидам. Это соединения, содержащие флаван – 3 – он, со структурой, характеризующейся 2 – фенил – 3,4 – дигидро – 2Н – 1 – бензопираном, содержащим гидроксильную группу, и кетоном с атомами углерода C2 и C3 соответственно. Дигидрокверцетин относится к естественным антиоксидантам растительного происхождения, является биофлавоноидом.

Учеными факультета биотехнологии и биологии ведутся работы с использованием ресвератрола и дигидрокверцетина в качестве стимулятора регенерационных процессов в поврежденных нервных тканях. Опытным путём было показано, что при введении ресвератрола и дигидрокверцетина содержание белков миелина увеличивается, восстанавливается фосфолипидный и жирнокислотный состав поврежденных нервных проводников.

ВКЛАД РАЗНЫХ ТИПОВ ДИАЦИЛГЛИЦЕРИН АЦИЛТРАНСФЕРАЗ В НАКОПЛЕНИЕ ЗАПАСНЫХ ЛИПИДОВ У ВИДОВ РОДА *EUONYMUS*

О. С. Павленко¹, Е. Н. Горшкова¹, Н. А. Трусов², И. В. Голденкова-Павлова¹

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,
127276, Москва, ул. Ботаническая, 35; *helliga.p@gmail.com*

²Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, 127276, Москва, ул. Ботаническая, 4

Триацилглицериды (ТАГ) являются основным резервуаром хранения жирных кислот и энергии у растений. ТАГ – это сложные эфиры глицерина и остатков трёх высших жирных кислот, синтезируемые из *sn*-глицеро-3-фосфата. ТАГ представляют собой основу большинства растительных масел, служат резервуаром жирных кислот для построения мембран, резервуаром энергии и углерода, используемых, например, во время прорастания семян. Метаболизм ТАГ играет большое значение в жизнедеятельности растений, влияя на процессы взаимодействия растение-патоген, созревание пыльцы, развитие семян и проростков, всхожесть семян.

Растения рода бересклет запасают липиды в семенах и сочных присемянниках (ариллусах). По всей видимости, в геноме бересклета содержатся гены пяти типов диацилглицеринацилтрансфераз: DGAT1, DGAT2, растворимая DGAT3, WS/DGAT и DAcT. Несмотря на выполнение одинаковой по сути функции (присоединение ацила к диацилглицерину) все типы DGAT не имеют гомологии между собой, различаются пространственной структурой, в том числе строением активного центра. В настоящее время, до конца не ясно, зачем растениям нужно такое многообразие DGAT.

Мы попытались выяснить, вклад каждого из перечисленных типов DGAT в накопление ТАГ в ариллусах видов бересклета (*Euonymus* L.), относящихся к под родам *Kalonymus* и *Euonymus*.

Плоды бересклета собирали в течение всего периода развития плода в течение лета-осени 2017 года в дендрарии Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН. Морфолого-анатомическое исследование путём микроскопии срезов плодов проводили для определения их стадии развития.

Далее была исследована динамика накопления запасных липидов в ходе созревания плодов. Было обнаружено, что в семенах всех изученных видов главным классом запасных липидов на каждой стадии созревания были ацетилированные диацилглицерины (*Ac*ДАГ), и в 3–4 раза превышали ТАГ на ранних стадиях развития плода. Тогда как на последних стадиях развития ТАГ присутствовали в следовых количествах, что согласуется с литературными данными для *E. alatus*, у которого количественное соотношение между этими классами в зрелых семенах бересклета составляло 91,7:3,3. В ариллусах наблюдалась обратная динамика. В них преобладающим классом запасных липидов были ТАГ. Однако, на ранних стадиях развития *Ac*ДАГ в 46 раз превышали ТАГ, но к моменту полной зрелости их уровень снижался до следовых количеств.

Для оценки вклада разных типов DGAT в накопление запасных липидов был проведен qPCR анализ, который показал высокий уровень экспрессии гена, кодирующего DAcT на ранних стадиях развития плода, что согласуется с превалированием *Ac*ДАГ по сравнению с ТАГ на тех же стадиях развития плода.

ФАУНА ГНЕЗД МУХОЛОВКИ-ПЕСТРУШКИ (*FICEDULA HYPOLEUCA*) НА ТЕРРИТОРИИ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ ЗЕЛЕНЬ ГОРОД

Д. А. Панова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
blaffee@yandex.ru

Изучение нидиколофауны гнезд птиц особо актуально в настоящее время и имеет важное практическое значение, поскольку все членистоногие, встречающиеся на теле или в гнездовой подстилке птиц, могут являться переносчиками довольно опасных заболеваний вирусного или бактериального происхождения. К подобным болезням относятся клещевой энцефалит, туляремия, ботулизм и др. С увеличением численности популяций тех или иных птиц повышается вероятность заражения определенными инфекциями других животных и даже людей. Целью работы является знакомство с нидиколофауной мухоловки-пеструшки и изучение особенностей ее функционирования на территории смешанного леса в памятнике природы «Зеленый Город», расположенного в городском округе Нижний Новгород.

Нидиколы – собирательное название группы членистоногих, в состав которой входят виды, обитающие в гнездах птиц и норах млекопитающих. Нидиколы являются потребителями органических остатков, а отдельные виды могут выступать в качестве эктопаразитов птиц. Численность многих видов паразитических членистоногих напрямую зависит от типа гнезда и его микроклимата. В связи с этим у различных групп птиц нидиколокомплексы различаются. Помимо типа гнезда и его микроклимата на численность нидиколов влияет также численность самих хозяев. Однако нередки случаи, когда количество особей доминирующего вида эктопаразитов базируется по большей части на устойчивости хозяина к определенным условиям и на благополучии его популяции в целом.

Исследование проводилось в летнее время 2021 года. Было осмотрено 32 дуплянки, из которых заселенными оказались 8. Всего было собрано 1327 представителей членистоногих. Нидиколофауна гнезд мухоловки-пеструшки представлена преимущественно гамазовыми клещами – мелкими паразитами около 1 мм. Основную массу выявленных членистоногих составлял клещ *Haemolaelaps casalis* (1028 экз.) во время активного репродуктивного периода. Из других членистоногих отмечены тироглифоидные клещи (*Glycyphagus destructor*, 128 экз.), блохи (*Frontopsylla frontalis*, 70 экз.), жесткокрылые (*Saprinus semistriatus*, 16 экз.), ложноскорпионы (2 экз.), личинки чешуекрылых (3 экз.) и двукрылых (26 экз., 2 вида). Несмотря на то, что гнездовые паразиты относятся к разным таксономическим группам, их жизненные циклы принципиально сходны между собой и обнаруживают приспособленность к жизненным циклам своих хозяев. Это находит выражение в том, что размножение нидиколов по времени совпадает с размножением хозяина, т.е. приурочено ко времени пребывания птиц в гнезде. После вылета птенцов наступает длительный по времени неблагоприятный период существования гнездово-норовых паразитов в отсутствие хозяина – источника питания, в условиях сильно изменяющейся среды (температура, влажность).

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИПА КЛЕТОК НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ КАЛЬЦИЕВОГО ИМИДЖИНГА

А. М. Пахомов, М. И. Кривоносов, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
science_pam@gmail.com

При проведении имиджинговых исследований функциональной кальциевой активности нейрон-глиальных сетей важно отличать нейроны от клеток глии, в частности астроцитов. Задача может быть решена, например, с применением мультисканальной флуоресценции, что требует использования нескольких флуоресцентных зондов – зонда для визуализации ионов Ca^{2+} и, например, генноинженерного вектора для экспрессии флуоресцентного белка под промотором GFAP – глиального фибриллярного кислого белка. Это делает задачу более сложной и дорогостоящей.

Для алгоритмического решения данной задачи были использованы данные, полученные в результате имиджинговых исследований первичных диссоциированных моноастроцитарных и нейрональных культур мышей линии C57BL/6. Данные были обработаны в программе Astrocyte Laboratory (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ 2021612870 от 25.02.2021), в результате чего получены временные ряды интенсивности.

Детектирование событий кальциевой активности и поиск их границ проводилось как алгоритмами Astrocyte Laboratory, так и реализованным независимо алгоритмом. В результате была сформирована обучающая выборка для алгоритмов машинного обучения, содержащая метку класса, длительность события и величину события от базовой линии в единицах интенсивности и процентах. Для обучения и проверки алгоритмов было использовано 16841 событие кальциевой активности астроцитов и 5773 события кальциевой активности нейронов. В связи с тем, что объём обучающих данных достаточно велик, размер тестовой выборки для оценки эффективности обученных алгоритмов выбран в размере 10% набора данных.

Построены диаграммы рассеяния, координаты точек которых соответствуют значениям длительности события и величины события от базовой линии в единицах интенсивности. На них события визуально подразделяются таким образом, что нейроны имеют более короткие и более значительные по величине события кальциевой активности по сравнению с астроцитами.

Для классификации были применены методы k ближайших соседей и основанный на методе опорных векторов SVM классификатор. Проведена валидация моделей, включающая оценку эмпирического риска – точность (ассигасу). Метод k ближайших соседей прост и достаточно устойчив к выбросам. Определено число соседей метода, при котором алгоритм имеет наименьшую ошибку классификации, равное 9, при этом значении параметра величина ассигасу на тестовых данных составила 0.941.

Алгоритм SVM создает линию или гиперплоскость, которая разделяет данные на классы. SVM классификатор применен с ядром, основанном на радиальной базисной функции (RBF). Произведён подбор параметров алгоритма с помощью модуля GridSearchCV. Подобраны наилучшие параметры SVM, при которых ассигасу на тестовых данных составила 0.94341.

Таким образом, установлено, что предложенный метод способен классифицировать клетки нервной ткани по типу кальциевой активности. Возможность раздельного анализа клеток разного типа в смешанных культурах даёт этому методу дополнительное преимущество для практического применения.

Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ, соглашение No 075-15-2020-927.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ЦИТОЗОЛЬНЫЙ pH И ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ГЕНОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА Pt-GFP

А. А. Печерина, М. Н. Агеева, М. А. Гринберг, Т. А. Здобнова, А. А. Брилкина,
В. А. Воденеев

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
pechyorinaa@gmail.com

Цитозольный pH является важной компонентой растительной клетки, от уровня которой зависят функционирование многих клеточных систем. Уровень pH тесно связан с функционированием цитоплазматической H^+ -АТФазы, которая так же способна влиять на характер электрических потенциалов растения. Нетравматичное исследование уровня pH может быть осуществлено с помощью ратиометрического pH-сенсора Pt-GFP, который имеет два пика на спектре возбуждения флуоресценции – при 390 и 490 нм: при кислых значениях pH выражены оба пика, а при щелочных значениях – пик при 490 нм. Увеличение значения отношения F490/395 свидетельствует о защелачивании pH, снижение – о закислении. Целью данной работы является исследование изменения pH и электрических потенциалов в листьях модельных растений картофеля при термических воздействиях.

Флуоресцентный имиджинг изменения pH в листьях картофеля с сенсором Pt-GFP проводили с помощью установки поверхностного оптического имиджинга DVS-03 (ИФТ РАН, Россия) и использовали для возбуждения сенсора светодиода 395/25 нм и 490/20 нм. Флуоресцентные изображения создавали с помощью CMOS-камеры в диапазоне 535/43 нм с экспозицией 2 с. Зависимость флуоресценции сенсора Pt-GFP от pH определяли посредством инкубирования листьев в буферных растворах с pH от 4 до 9 в присутствии протонифора КЦХФГ с последующим получением изображений листьев при возбуждении диодами и построением графика зависимости F490/F395 от pH в программе GraphPad Prism.

Флуоресцентный имиджинг в целом листе проводили для исследования локального изменения уровня pH в месте воздействия и распространения сигнала pH в интактные участки листа. В первом случае производили последовательное охлаждение с помощью элемента Пельтье всего листа до 16,4, 9,4, 4,9 и 3°C или нагревание до 34,7, 42,9, 50,7 и 59,1°C; во втором случае нагревали кончик листа керамическим резистором до температуры 52,7°C. Так же проводили тестирование работы H^+ -АТФазы в ответ на охлаждение до 9,4°C и нагревание до 42,9°C листьев, обработанных 2,5 mM Na_3VO_4 . Одновременно с флуоресцентным имиджингом фиксировали электрические сигналы листа с помощью хлорсеребряных макроэлектродов, подключенных к pH-метру/иономеру Мультитест ИПЛ-113 (НПП «Семико», Россия).

Во время охлаждения листовой поверхности в зоне воздействия стрессирующего фактора происходило снижение pH цитозоля; пересечение зоны температурного оптимума приводило к повышению pH. При действии высоких температур характер изменения pH был противоположным. Генерация переменного потенциала наблюдалась при действии высоких температур. Нанесение температурного стимула влекло за собой распространение сигнала в нераздраженные области листа и сдвиг клеточного pH в них. Также была доказана важная роль H^+ -АТФазы плазмалеммы в изменении цитозольного pH и электрических потенциалов. Модельные растения картофеля с pH-чувствительным белком Pt-GFP могут быть использованы для исследования пространственного и временного изменения уровня pH на уровне «whole-plant» при действии различных стрессирующих факторов.

Исследование поддержано НЦМУ «Центр Фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2020-927.

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ОТВЕТА ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ТЕРАПИЮ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ЭЛАСТОГРАФИИ ***А. А. Плеханов¹, Е. В. Губарькова¹, М. А. Сироткина¹, А. А. Советский², С. С. Кузнецов³, Д. А. Воронцов³, В. Ю. Зайцев², Н. Д. Гладкова¹***

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

²Институт прикладной физики РАН, 603155, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

³Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, 603126, Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1;

В клинической практике для проведения органосохраняющих операций по резекции опухолей молочной железы нередко проводят неоадьювантную (предоперационную) терапию. Промежуточную оценку ответа опухоли на терапию проводят с помощью клинических инструментальных методов и, в редких случаях, повторного гистологического исследования трепан-биопсии рака молочной железы (РМЖ), где раннее определение степени выраженности лечебного патоморфоза позволяет наиболее оптимально скорректировать тактику лечения и повысить качество жизни пациента. В данном исследовании продемонстрирована возможность применения метода оптической когерентной эластографии (ОКЭ) для определения степени ответа опухоли на терапию на примере послеоперационных образцов РМЖ пациентов после лечения. Использование технологии может позволить онкологу в короткие сроки принять решение об изменении лекарственной терапии или сокращении объема хирургического лечения.

Цель работы состояла в разработке способа определения ответа опухоли молочной железы на терапию на основе оценки модуля упругости методом ОКЭ.

Исследование проведено на мультимодальном оптическом когерентном томографе (ИПФ РАН). Эластографическое исследование с получением карт распределения значений модуля упругости выполнено на 13 послеоперационных образцах РМЖ. Исследование осуществлялось по оси максимального размера опухолевого узла для получения наиболее полной патоморфологической картины. Полученные ОКЭ изображения сопоставлялись с гистологическими изображениями. Затем были определены случаи соответствия и несоответствия устанавливаемых степеней ответа опухолей между двумя способами сегментирования площадей резидуальных (сохранившихся после терапии) опухолевых клеток: предложенным способом по характерным значениям модуля упругости и классическим способом определения опухолевых клеток на гистологических срезах.

Установлен диапазон значений модуля упругости для сегментации резидуальных опухолевых клеток (более 420 кПа) как наиболее важных при определении ответа опухоли на терапию морфологических структур. При изучении корреляции результатов сегментирования ОКЭ и гистологических изображений определено высокое значение коэффициента корреляции Пирсона ($r=0,98$; $p < 0,001$). При установлении степеней ответа опухоли на терапию по системе оценки Миллера-Пейна результаты эластографического исследования в 12 из 13 случаях (92,3%) соответствовали гистологическому исследованию. Допущенная ошибка связана с пограничным между 3 и 4 степенями значением показателя резидуальных опухолевых клеток у исследуемого образца.

Установлена эффективность способа определения степени ответа опухоли на терапию на основе оценки модуля упругости резидуальных опухолевых клеток методом ОКЭ. Предложенный способ позволяет в короткие сроки и с высокой точностью (подтверждено корреляцией с результатами гистологического анализа) получить данные о морфологическом статусе опухоли, что свидетельствует о потенциале клинического применения технологии для экспресс-анализа трепан-биопсий РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 18-75-10068.

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ДЕФИЦИТУ ВЛАГИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ОКСИДА АЗОТА

А. А. Плотников, И. И. Зикрина, С. А. Мирза, А. Р. Лубянова, Р. А. Юлдашев,
А. М. Авальбаев, Ч. Р. Аллагулова

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа, просп. Октября 71-Е;
plotnikow87@mail.ru

В условиях глобальных климатических изменений увеличивается частота возникновения засух, вызывающих снижение продуктивности сельскохозяйственных культур, среди которых одной из наиболее важных является пшеница. Агрохимикаты, традиционно применяемые на практике с целью предотвращения потерь урожая, представляют серьезную угрозу для окружающей среды и здоровья человека. Поэтому одним из наиболее актуальных вопросов современной биологической науки является поиск эффективных и безопасных средств защиты растений от неблагоприятных внешних воздействий. Оксид азота (NO) является универсальной сигнальной молекулой, участвующей в регуляции метаболизма растений на всех этапах их жизненного цикла. Вместе с тем он вовлекается в развитие устойчивости растений к действию стрессовых факторов разной природы, включая засуху. Поэтому исследование механизмов его защитного и регуляторного действия в растениях пшеницы имеет важное фундаментальное и прикладное значение.

В работе проводили исследование влияния донора оксида азота нитропруссид натрия (SNP – sodium nitroprusside) на растения пшеницы *Triticum aestivum* в норме и при воздействии водного дефицита, моделируемого с помощью 12 %-го ПЭГ. Присутствие SNP в концентрации 200 мкМ в среде прорастания семян оказывало стимулирующее действие на процессы роста, о чем судили по всхожести семян, линейным размерам 3 сут проростков, показателям их сырой и сухой массы, и митотическому индексу апикальной меристемы корней. ПЭГ-индуцированное обезвоживание вызвало резкое торможение роста проростков, тогда как SNP-предобработка способствовала предотвращению повреждающего действия стресса на рост. Регуляция роста растений находится под контролем гормональной системы, поэтому далее был проведен анализ изменений в содержании АБК, ИУК и цитокининов в проростках, выращенных в присутствии SNP и подвергнутых водному стрессу. Сама обработка донором NO приводила к 2-кратному увеличению концентрации цитокининов на фоне отсутствия существенных изменений в содержании ИУК и некоторого повышения количества АБК. Стрессовая обработка вызвала сильные колебания в балансе фитогормонов, связанные с резким увеличением уровня АБК и падением концентрации цитокининов и ИУК в проростках пшеницы. Предобработанные SNP и подвергнутые стрессу образцы характеризовались снижением стресс-индуцированных сдвигов в содержании АБК и ИУК и поддержанием концентрации цитокининов на уровне близком к контролю. Предобработка проростков SNP способствовала нормализации водного обмена подвергнутых стрессу проростков, о состоянии которого судили по показателям относительного содержания воды, осмотического потенциала клеточного сока, и уменьшению падения интенсивности транспирации.

Совокупность полученных результатов указывает, что важный вклад в реализацию роста стимулирующего и протекторного эффектов оксида азота на растения пшеницы в норме и при обезвоживании вносит его способность оказывать влияние на скорость деления клеток и ростовые процессы проростков, состояние гормональной системы, а также на их водный режим.

Работа выполнена за счет средств гранта РНФ № 22-24-00196.

ИММУНОЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

В. Д. Плотникова, Е. С. Рябинина, Е. Б. Романова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ryabinina.E.S@yandex.ru

Актуальность исследования определяется необходимостью изучения адаптивных реакций системы крови организмов, позволяющих им выживать и расширять ареал в изменяющихся условиях среды, и крайней ограниченностью работ по содержанию циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови, иллюстрирующих функциональную активность иммунной системы. Цель работы – оценка состояния популяций зеленых лягушек урбанизированной территории по комплексу показателей иммунного гомеостаза (формуле крови, содержанию лейкоцитов, эритроцитов и иммунных комплексов).

Материалом работы служили сборы озерных и прудовых лягушек, на трех водных объектах Нижегородской области. В пробах воды с помощью спектрофотометра определены основные химические загрязнители и произведен расчет удельного комбинаторного индекса загрязненности воды. Число эритроцитов (тыс./мм³), лейкоцитов (тыс./мм³) и дифференцированный подсчет видов лейкоцитов (в %): нейтрофилов разной степени зрелости, базофилов, эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов, проводили общепринятым методом (Меньшиков и др., 1987). На основании лейкоцитарной формулы крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы (отн. ед.) (Мустафина и др., 1999; Ткаченко, Дерхо, 2014; Sabagna et al., 2005). Определение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови проводилось с помощью метода селективной преципитации в растворе полиэтиленгликоля (Гриневич, Алферов, 1981). Статистическая обработка экспериментальных данных проведена с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0. и программного комплекса R-studio методами непараметрической статистики с расчетом критерия Данна (z). За величину уровня статистической значимости принимали $p = 0,05$.

По результатам гидрохимического анализа для каждого водоема был рассчитан удельный комбинаторный индекс загрязненности воды (УКИЗВ) и определен класс качества воды. Выявлено превышение норматива качества воды по содержанию тяжелых металлов для водоемов рыбохозяйственного назначения во всех водных объектах. Содержание лейкоцитов у прудовых лягушек и озерных лягушек статистически значимо не различалось ($z=1,78$, $p=0,07$), однако выявлено значимое превышение содержания эритроцитов в периферической крови озерных лягушек ($z=2,26$, $p=0,02$) по сравнению с прудовыми. Были установлены количественные и качественные изменения в лейкоцитарном составе крови озерных и прудовых лягушек, проявляющиеся в условиях высокого комплексного загрязнения водных объектов. У озерных лягушек оз. Силикатное (УКИЗВ = 7,15) выявлено повышенное содержание юных ($p=0,01$), палочкоядерных ($p=0,01$) и сегментоядерных ($p=0,004$) нейтрофилов, базофилов ($p=0,009$) и пониженное содержание лейкоцитов ($p<0,001$) по сравнению с прудовыми лягушками оз. Вторчермет (УКИЗВ = 4,4) и бол. Белкино (УКИЗВ = 34,02). Наблюдаются различия по таким интегральным лейкоцитарным индексам как КПП, РОН, ИЛГ, ИСНЛ и ИСЛ, что отражает у амфибий стресс-индуцированную реакцию лейкоцитов, разницу в продукции воспалительных медиаторов, а также перераспределение соотношения общей доли гранулоцитов к агранулоцитам между данными выборками. Определение количественного содержания ЦИК в сыворотке крови амфибий выявило статистически значимые различия по количеству мелких иммунных комплексов при длине волны 280 нм ($p=0,004$) и 350 нм ($p=0,012$), а также по величине среднего индекса укрупнения, между озерными лягушками оз. Силикатное и прудовыми лягушками оз. Вторчермет и бол. Белкино, что свидетельствует о повышенной аллергизации объектов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБНЫХ ДИАСПОР ТВЕРДЫХ АТМОСФЕРНЫХ ВЫПАДЕНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ УРБОЭКОСИСТЕМЫ

К. А. Плотникова, А. Е. Иванова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1; *kristiiu@mail.ru*

Одним из путей биологического загрязнения может стать запыление воздушной среды приземного слоя почвы. Грибные диаспоры, оседающие из атмосферы воздуха на поверхность почв, могут выступать причиной изменения состава доминирующих видов и биоморфологической структуры почвенной микобиоты, накопления потенциально опасных для человека и флоры видов. Определение содержания и состава грибного аэропланктона в воздухе является важным аспектом экологической, фитопатологической и санитарно-гигиенической оценки состояния воздуха в урбоэкосистемах. Цель работы: оценка уровней присутствия (объема и состава) микобиоты в твердых атмосферных выпадениях разных функциональных зон (придорожной и парковой) урбоэкосистемы на примере Москвы.

Грибные аэрозоли отбирали аспиратором ПУ-1Б на высотах 0,1 м – напочвенной (для оценки состава микроорганизмов приземной пыли) и 1,5 м – уровень дыхания человека среднего роста (что более информативно с санитарно-медицинских позиций); а также методом седиментации при экспонировании контейнеров на поверхность почвы в течение 3 суток. Одновременно учитывали метеорологические параметры. Выделение культивируемых грибов осуществляли методом посева на среду Чапека. Идентификацию видовой принадлежности проводили по культурально-морфологическим и молекулярным признакам. Анализ грибной биомассы с учетом размерных характеристик грибных пропагул выполняли методом прямой люминесцентной микроскопии при окрашивании калькофлюором белым; анализ общей численности пылевых частиц методом прямой световой микроскопии с использованием программ фотосъемки на микроскопе Leica ICC50 E.

В составе воздушных аэрозолей доминировали виды родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Phoma* и *Trichoderma*, которые относятся к потенциально патогенным и/или аллергенным видам согласно СП 1.3.2322-08 от 28.01.2008. Споры этих грибов входят в размерные фракции пылевых частиц PM_{2,5} (25 мкг/м³) и PM₁₀ (50 мкг/м³), внесенных в международный контроль индексов загрязнения атмосферы (EN 12341:2014).

По результатам исследования численность грибных спор оказалась выше в парковой зоне, чем в придорожной. Однако наибольшая биомасса спор выявлена у дороги на высоте 1,5 м – за счет увеличения обилие спор крупных размеров (PM₁₀). В составе микоаэрозолей преобладали споры, однако обнаруживали и единичные фрагменты мицелия, количественно преобладающие в парке на высоте 1,5 м. Суммарная грибная биомасса составила 0,13–0,15 мг/м³ в надпочвенном слое и 0,22–0,23 мг/м³ – на высоте 1,5 м.

Анализ грибных пылевыпадений методом седиментации также выявил существенно большие объемы грибных структур, поступающих на поверхность почвы из воздуха, в парковой зоне. На придорожной территории численность оседающих спор и биомасса мицелия оказались в 1,5–2 раза меньше.

Сравнение полученных результатов о содержании грибных частиц в воздухе с данными учета пылевых частиц PM_{2,5} и 10, представленными на сайте Мосэкомониторинга, позволяет сделать заключение: доля грибных частиц в составе пылевых фракций составляет 75% в парковой зоне, 57% в придорожной, что не противоречит литературным данным (разными авторами оценивается до 70%).

Полученные данные следует учитывать при оценке опасности запыления городских территорий разного функционального назначения для здоровья городского населения как возбудителя микозов и аллергий, а также распространения эпифитотий, вызванных заболеваниями растений.

ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

Т. И. Погонова, А. А. Скокова, А. В. Дерюгина, Д. А. Данилова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kfg.unn@mail.ru

Согласно мировой статистике, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности и инвалидности населения. Их развитие связано с усилением процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), нарушением внутрисердечной гемодинамики, что способствует ухудшению насосной функции сердца и развитию недостаточности кровообращения. На сегодняшний день основную часть лечения ССЗ составляют оперативные вмешательства в условиях искусственного кровообращения (ИК), которые сопровождаются травматизацией клеток крови в магистральных экстракорпорального контура с развитием интраоперационного гемолиза, что может привести к еще большему ухудшению состояния пациента. Согласно многочисленным исследованиям молекулярный водород (H_2) является перспективной молекулой с широким спектром эффектов (антиапоптотическим, противовоспалительным, цитопротекторным, противоаллергенным и антиоксидантным) и имеет ряд преимуществ перед другими антиоксидантами: способен свободно проникать через мембраны, не проявляет токсических эффектов на клетку и избирательно действует на высокореактивные гидроксильные радикалы, не нарушая метаболические окислительно-восстановительные реакции.

Актуальность исследования заключается в том, что действие H_2 при кардиохирургических операциях в условиях ИК на данный момент не установлено. Целью работы являлось изучение динамики концентрации 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах и диеновых (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) в плазме крови кардиохирургических больных при использовании молекулярного водорода.

Материалом для исследований послужила периферическая венозная кровь от 20 кардиохирургических больных, прооперированных в условиях искусственного кровообращения в ГБУЗ НО «СККБ». 10 пациентам вводили H_2 в контур ИК, в группе контроля терапия H_2 не проводилась. Забор крови осуществлялся по 6 контрольным точкам. Концентрацию АТФ и 2,3-ДФГ определяли неферментативным методом по содержанию неорганических фосфатов. Концентрация ДК, ТК и ОШ определялась по методике И.А. Волчегорского. Учет результатов по всем показателям проводили спектрофотометрически.

Исследование влияния H_2 на содержание продуктов ПОЛ в плазме крови кардиохирургических больных показало, что начиная со 2 этапа эксперимента происходило статистически значимое снижение концентрации ДК в исследуемой группе относительно значений группы сравнения, ТК значимо снижались с 30 минуты ИК, а значимое уменьшение концентрации ОШ отмечалось с 60 минуты. При этом, все исследуемые показатели к концу эксперимента были ниже значений до операции. Анализ концентрации АТФ и 2,3-ДФГ показал сходную динамику показателей в исследуемых группах при значительно более выраженной концентрации АТФ и сниженном содержании 2,3-ДФГ на всех этапах регистрации при действии H_2 по сравнению с контрольной группой.

Полученные результаты позволяют предположить, что действие H_2 способствует снижению процессов липопероксидации, поддерживает газотранспортную и энергетическую функции крови, тем самым сохраняя пластичность мембран и нивелируя последствия ИК. Таким образом, молекулярный водород может применяться в качестве эффективного антиоксиданта при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения, что требует дальнейших исследований.

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ОТВЕТ МОДЕЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ, НА ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОСТРОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ

М. С. Подлукский, Д. Д. Бабина, М. Ю. Подобед, П. Ю. Волкова

Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Калужская область, Обнинск, Киевское шоссе, 109 км; mikhail.podlutskii@gmail.com

В данном эксперименте использовали семена *Arabidopsis thaliana* из трех различных популяций, отобранные на территории Полесского государственного радиэкологического заповедника (Гомельская область, Республика Беларусь) в районе расположения трех бывших населенных пунктов (Бабчин, Масаны и Выгребная Слобода), подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии, произошедшей на Чернобыльской АЭС.

Для выявления возможного транскриптомного ответа, полученные семена *A. thaliana* дополнительно подвергали острому воздействию гамма-излучения (150 Гр) с использованием установки радиационного облучения ГУР-120 (мощность дозы – 460 Гр/ч, ^{60}Co). Облученные семена высаживали в чашки Петри на полусильную питательную среду Мурасиге-Скуга (ООО «Биолот», РФ) с добавлением 0.3% сахарозы, помещали в фитотрон MLR-351H (Sanyo, Япония) и выращивали в течение 13-ти дней в режиме длинного светового дня.

Из полученных 13-ти дневных проростков *A. thaliana* выделяли тотальную РНК с использованием набора GeneJet Plant RNA Purification Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Полученные образцы РНК передавали в компанию ЗАО «Евроген» (Москва, РФ) для секвенирования парных прочтений на приборе Illumina NovaSeq 6000 SP (США).

Качество первичных данных оценивали при помощи FastQC v.0.11.9 и MultiQC v.1.10. Прочтения низкого качества обрабатывали с использованием Trimmomatic v.0.40 в режиме парных прочтений (Paired End Mode). HISAT2 v.2.1 использовали для сопоставления и картирования полученных прочтений на эталонный геном *A. thaliana* (TAIR10) с дополнительным выравниванием (-downstream-transcriptome-assembly), необходимым для правильной работы сборщика транскриптов StringTie v.2.1.1. Анализ дифференциальной экспрессии генов выполняли с использованием программного пакета edgeR v.3.14. Полученные результаты представляли в виде логарифма кратного изменения ($\log_2\text{FC}$). Повышенный уровень экспрессии отмечали для генов, для которых показатель $\log_2\text{FC} \geq 2$, пониженный уровень экспрессии – $\log_2\text{FC} \leq -2$. Принятый уровень статистической значимости для полученных результатов составил 0.05 (с использованием корректирующего метода ожидаемой доли ложных отклонений гипотез по методу Бенджамини-Хохберга).

Для проростков, выращенных из семян, отобранных в районе расположения бывшего населенного пункта Масаны, было выявлено всего 46 дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ): 33 гена с повышенной экспрессией и 13 – с пониженной экспрессией. *AT5G49420*, *AT1G15640*, *AT5G14160* и *CAD8* характеризовались максимальными уровнями $\log_2\text{FC}$, а *AT2G27402*, *AT2G29000*, *AT3G61030* и *AT3G62460* – минимальными уровнями $\log_2\text{FC}$.

Для проростков, полученных из семян популяции «Выгребная Слобода», было обнаружено 453 ДЭГ: 186 генов с повышенной экспрессией (*AT3G42723*, *AT4G36140*, *AT3G44070* и *AT2G29300* характеризовались максимальными уровнями $\log_2\text{FC}$) и 266 генов с пониженной экспрессией (*AT3G61030*, *DAR4*, *AT2G41440* и *CSA1* характеризовались минимальными уровнями $\log_2\text{FC}$).

Транскриптомный ответ для проростков, выращенных из семян, отобранных в районе расположения бывшего населенного пункта Бабчин, также описывался множеством ДЭГ в ответ на острое воздействие гамма-излучения: 276 генов характеризовались повышенной экспрессией, а 202 гена – пониженной экспрессией. *SCPL14*, *AT1G65483*, *AT2G28680* и *AT1G28650* соответствовали генам с максимальными уровнями $\log_2\text{FC}$, а *BRN1*, *AT1G05660*, *AT4G19770* и *MTPC3* – с минимальными уровнями $\log_2\text{FC}$.

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ПРОРАСТАНИЯ, МОРФОМЕТРИИ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МУТАНТНОЙ ЛИНИИ *hpsal1* *ARABIDOPSIS THALIANA* ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ ИЛИ ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТИЛВИОЛОГЕНА

М. Ю. Подобед, Д. Д. Бабина, Е. В. Бондаренко, А. А. Празян, М. С. Подлуцкий, А. С. Миценок, Е. М. Шестерикова, П. Ю. Волкова

Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Калужская обл., Обнинск, Киевское шоссе, 109 км; podobedmyu@gmail.com

Ионизирующее излучение способно выбивать электроны из атомов или молекул и таким образом окислять биологически важные соединения и приводить к возникновению активных форм кислорода (АФК), вовлечённых в цепные реакции, повреждающие клеточные мембраны, белки и ДНК. АФК активируют пути внутриклеточной сигнальной трансдукции, обеспечивающие адаптацию растения к стрессовым условиям, однако повышенная продукция АФК или низкий уровень антиоксидантов внутри клетки могут привести к развитию окислительного стресса. Известно, что митохондрии и хлоропласты являются важнейшими органеллами, вовлечёнными в механизмы внутриклеточной сигнальной трансдукции, в том числе в условиях окислительного стресса. Фотосинтез чувствителен к стрессовым факторам окружающей среды, в том числе к ионизирующему излучению, которое может оказывать воздействие на разные компоненты фотосинтетического аппарата.

Пероксид водорода (H_2O_2) является основной долгоживущей АФК. Поэтому для изучения влияния ИИ на АФК-опосредованный Ca^{2+} сигналинг был выбран модельный организм *Arabidopsis thaliana*: дикий тип (экотип Col-0) и линия *hpsal1*, дефектная по Ca^{2+} сигналингу, опосредованному H_2O_2 . Ca^{2+} обладает универсальной способностью в проведении сигналов, связанных с воздействием стрессовых факторов, фитогормонов и света.

Семена выбранных линий облучали на γ -установке ГУР-120 в ФГБНУ ВНИИРАЭ (источник γ -квантов – ^{60}Co) в бумажных пакетах. Дозы острого облучения составили 25, 50, 100, 150, 200 и 300 Гр при мощности дозы 520 Гр/ч.

Окислительный стресс моделировали с помощью добавления метилвиолгена (МВ, N,N'-диметил-4,4'-дипиридил дихлорид, $M = 257.16$ г/моль, Sigma-Aldrich) в среду $1/2$ МС в концентрациях 0,001, 0,01, 0,1 и 1 мкМ перед автоклавированием.

МВ в концентрации 0,01 мкМ оказал стимулирующий эффект на прорастание линии *hpsal1*. С увеличением концентрации МВ (от 0,01 мкМ и выше) средняя площадь поверхности листьев обоих генотипов статистически значимо снижалась. Высокие дозы МВ значимо снижали начальный уровень флуоресценции F_0 у обоих генотипов (Col-0, *hpsal1*) (уровни значимости: $p=0,01$, $p=0,01$, соответственно). У растений линии *hpsal1*, выросших на средах с содержанием МВ 0,01 и 0,001 мкМ, наблюдалось увеличение начального уровня флуоресценции ($p=0,02$ для обеих концентраций МВ). Это может свидетельствовать о толерантности растений к окислительному стрессу в связи с нарушениями АФК-сигналинга, характерными для данной линии. Для обоих исследуемых генотипов при высокой концентрации МВ (0,1 мкМ) наблюдалось снижение максимальной флуоресценции F_M ($p=0,01$). Известно, что показатель F_M зависит от содержания хлорофилла в листьях. При самой высокой из исследуемых концентраций МВ в среде также выявлено статистически значимое снижение максимального фотохимического квантового выхода ФС II в адаптированных к темноте объектах F_V/F_M у дикого типа Col-0 ($p=0,02$), и у мутантной линии *hpsal1* ($p=0,01$).

После облучения семян обоих генотипов в указанных дозах наблюдается высокая дисперсия в получаемых данных по показателю прорастания семян и низкая воспроизводимость результатов облучения одного и того же генотипа в одних и тех же условиях. Кроме влияния на результат факторов «доза» и «генотип», были проанализированы вклад таких факторов как «стратификация» и «срок хранения семян» (рассчитывается от момента сбора семян).

СОПОСТАВЛЕНИЕ ПАЛЬПАТОРНЫХ И ЭНМГ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПАРАВЕРТЕБРАЛЬНЫХ МЫШЦ

М. А. Поздняков, В. О. Белаиш

Северо-Западный государственный медицинский университет имени им. И.И. Мечникова,
191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41; *keelian1996@gmail.com*

В течение всего периода развития остеопатии, оценка функционального состояния организма и наличие соматических дисфункций определялось пальпаторно или с помощью специфических остеопатических тестов. В последние годы в диагностике различных проблем паравертебральных мышц используется ЭМГ исследование. Таким образом, можно соотнести данные, полученные пальпаторно с данными ЭМГ для последующей объективизации пальпаторных возможностей врача-osteопата

Ключевые слова. Сопоставление пальпаторных и ЭМГ показателей паравертебральных мышц, ЭНМГ, остеопатия.

Цель – выявить взаимосвязи между остеопатическими характеристиками паравертебральных мышц, определяемыми пальпаторно, и характеристиками функционального состояния мышц по данным ЭМГ.

Во время исследования была проведена пальпация паравертебральных мышц на уровне Th4, L3, с определением мышечного тонуса. После проведения пальпации было проведено измерение электрической активности паравертебральных мышц с помощью поверхностной электромиографии (пЭМГ), которая выполнялась на комплексе беспроводного мониторинга электрофизиологических сигналов «Колибри» по ТУ 9442-007-12152519-2015.

Была получена взаимосвязь между остеопатическими характеристиками паравертебральных мышц и характеристиками функционального состояния мышц по данным ЭМГ. Получена взаимосвязь между большим тонусом определяемым пальпаторно и сравнительными показателями пЭМГ.

Установлено, что остеопат может определять различные характеристики тонуса паравертебральных мышц.

ПАРАМЕТРЫ ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АФФЕКТИВНЫМИ СТИМУЛАМИ У ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ И ИСПЫТУЕМЫХ С ДЕПРЕССИВНЫМ СИНДРОМОМ

А. В. Полевая, С. В. Камратов, С. Б. Парин

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
a.dostoevskaya@gmail.com

Данное исследование проводилось с целью определения значимых физиологических параметров движения взора для выявления депрессивного синдрома. В качестве основного метода была выбрана видеоокулография (Eye Tracking). Выборка составила 25 человек, среди них 15 условно здоровых испытуемых и 10 пациентов Городской клинической психиатрической больницы № 1 г. Нижнего Новгорода (19 женщин и 6 мужчин, 26±5 лет). Испытуемые, входящие в состав клинической группы, согласно классификации МКБ-10, имели следующие диагнозы: депрессивный эпизод средней степени (F 32.1), депрессивный эпизод тяжелой степени без психотических симптомов (F 32.2), рекуррентное депрессивное расстройство, текущий эпизод средней степени (F 33.1) и рекуррентное депрессивное расстройство, текущий эпизод тяжелой степени без психотических симптомов (F 33.2). Обработка полученных данных осуществлялась в соответствии с нормами медицинской тайны и требованиями конфиденциальности. Перед участием в эксперименте каждый испытуемый ознакомился и подписал форму добровольного согласия на участие. В качестве стимульного материала были использованы 30 аффективных изображений из базы International Affective Picture System (IAPS), из них 10 с отрицательной эмоциональной валентностью, 10 с нейтральной и 10 с положительной. Для определения эмоциональной валентности непосредственно испытуемым, проводилось анкетирование по шкале SAM (Center for the Study of Emotion and Attention) (Lang et al., 2008). Регистрация показателей зрительно-моторной активности в процессе просмотра изображений проводилась с помощью программно-аппаратного комплекса SMI iView XTM Hi-Speed 1250, с частотой дискретизации 1250 Гц при времени обработки менее 0,5 миллисекунд, разрешение по пространству 1680·1050. Были сравнены значения длительности фиксации в миллисекундах, размера зрачка в пикселях, амплитуды и скорости саккад. В результате эксперимента были сделаны выводы о том, что удлинение фиксации свидетельствует о повышении субъективной сложности восприятия испытуемым стимула, в то время как увеличение диаметра зрачка может быть связано с ростом напряжения регуляторных систем и повышением тревожности. Были выявлены значимые отличия в параметрах зрительно-моторной активности для разной эмоциональной валентности аффективных изображений. Для нейтральных изображений зарегистрирована максимальная продолжительность фиксации, при этом диаметр зрачка значимо меньше, чем при просмотре изображений с отрицательной валентностью; для изображений с положительной валентностью характерны короткое время фиксации и маленький диаметр зрачка; для отрицательных изображений характерны максимальные значения по показателю «диаметр зрачка», что свидетельствует об активации симпатической нервной системы и повышении тревожности. Индифферентно к валентности стимула, средняя амплитуда и скорость саккад у испытуемых с депрессивным синдромом значимо больше соответствующих показателей у здоровых испытуемых. Также распределение значений по параметрам «диаметр зрачка» и «длительность фиксации» у испытуемых с депрессивным синдромом теряет свою специфичность для каждой валентности, характерную для здоровых испытуемых.

Проведенный анализ зрительно-моторной активности при просмотре визуальных стимулов различной эмоциональной валентности показал перспективность использования данной методики для детектирования эмоций, связанных с событиями в виртуальной реальности, а также выявления заболеваний психоэмоциональной сферы, таких, как депрессивный синдром.

АНАЛИЗ МЕТОДОВ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

А. В. Полозова^{1, 2}, А. В. Дерюгина¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shumilowanastya@gmail.com

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

В настоящее время исследованию патофизиологических механизмов развития травматических повреждений головного мозга и способам коррекции показателей гемостаза, направленных на снижение и предотвращение развития полиорганной недостаточности, уделяется особое внимание. В связи с отмеченным, актуальным является поиск новых способов диагностики и эффективности проводимой терапии.

Цель исследования – изучение морфологии эритроцитов в посттравматический период черепно-мозговой травмы различными методами визуализации.

Закрытую ЧМТ моделировали крысам, путем свободного падения груза на теменно-затылочную область головного мозга. Опытным группам в течение 10 дней ежедневно внутрибрюшинно вводили цитофлавин (0,2 мл/кг) и мексикор (8 мг/кг), контрольной группе – физраствор. Морфологию эритроцитов изучали в мазках крови окрашенных по Романовскому-Гимзе световой микроскопией и методом лазерной модуляционной интерференционной микроскопии в режиме реального времени без предварительной фиксации на 1, 3, 7 и 12 сутки после нанесения травмы. Обработку полученных изображений MIM Visualizer 1.0 (MIM Software Inc., США).

В ходе экспериментального исследования было показано, что острый период ЧМТ характеризовался значительным увеличением числа эхиноцитов, стоматоцитов и сфероцитов на фоне снижения числа дискоцитов относительно показателей интактной группы животных. При этом фазовые портреты характеризовались статистически значимым увеличением фазовой высоты, диаметра, площади, объема и периметра эритроцитов относительно значений тех же показателей у интактной группы животных. При действии мексикора и цитофлавина с 3 - 7 суток исследования регистрировали возрастание числа дискоцитов, но при этом фазовые портреты характеризовались появлением различной степени двояковогнутости с сохранением шипов. При действии цитофлавина кривизна и глубина пэллора увеличивалась, росла толщина в области тора, при этом уменьшалось число утолщенных шипов, выпуклостей и неровностей. При действии мексикора, несмотря на более активные процессы восстановления геометрических размеров клетки, на протяжении всего периода исследования отмечали сохранение многочисленных острых шипов и спикул на поверхности тора.

Таким образом, интерференционная микроскопия позволяет детализировать морфологию эритроцитов при действии цитопротекторов и выявить изменения, не регистрируемые световой микроскопией. В частности, наличие шипов на дискоцитах регистрируемое интерференционной микроскопией при действии мексикора и цитофлавина к 3–7 суткам исследования может иметь существенное значение при выполнении эритроцитами их газотранспортной функции, что необходимо учитывать в ходе проводимой терапии.

ИССЛЕДОВАНИЕ СФЕРОИДОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ ЦИТОХАЛАЗИНОМ В МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ

А. С. Пономарев, З. Е. Гилазиева, А. В. Курненко, А. А. Ризванов, В. В. Соловьева
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
anna.kurnenkova@mail.ru

Внеклеточные везикулы представляют собой гетерогенную группу мембранных структур, синтезирующиеся и выделяющиеся клетками. Благодаря способности везикул транспортировать липиды, факторы транскрипции, мРНК, некодирующие регуляторные РНК и белки, они являются ключевыми посредниками между опухолевыми клетками и окружающей средой. Предполагается, что изучение влияния внеклеточных везикул МСК на опухолевые клетки позволит найти новые методы борьбы с онкологическими заболеваниями. Следовательно, целью данной работы является охарактеризовать влияние индуцированных цитохалазином В мембранных везикул (индМВ) клеток глиобластомы и мезенхимных стромальных клеток человека на опухолевые сфероиды *in vitro*.

Для исследования опухолевых сфероидов использовался метод «висячая капля» (в одной капле 20 тыс. клеток колоректальной карциномы (НТС-15) на 30 мкл среды с добавлением факторов FGF, EGF, B27). Было сгенерировано 3 группы сфероидов: 1 – контроль, 2 – с добавлением 1 мкг везикул, 3 – с добавлением 2 мкг везикул. Контроль представлял собой 2D модель и сфероиды, которые культивировались без добавления мембранных везикул. Мембранные везикулы получали из МСК жировой ткани человека и клеток глиобластомы (SNB-19) человека с помощью 10 мкг/мл цитохалазина В и серии последовательных центрифугирований. Добавление мембранных везикул к сфероидам производилось в концентрациях 1 мкг и 2 мкг. Везикулы добавлялись после 12 часов культивирования клеток. Измерения производили на 3 сутки. Для анализа влияния везикул использовали конфокальную и трансмиссионную микроскопии и проточную цитофлуориметрию.

Конфокальной микроскопией было подтверждено слияние везикул и клеток, образующих сфероиды после 24-х часов культивирования. На 3 сутки культивирования трансмиссионная электронная микроскопия не показала отрицательного влияния везикул на опухолевые клетки, но при добавлении везикул выявилось, что в цитоплазме клеток присутствуют укомплектованные везикулами структуры, подобные мультивезикулярным тельцам. Окрашивание аннексином V показало небольшое увеличение количества жизнеспособных клеток после добавления индМВ 1 как в опухолевых сфероидах, так и в монослойной клеточной культуре. После переноса опухолевых сфероидов на культуральный пластик, все группы сфероидов прикреплялись к пластику и начинали образовывать монослойную культуру клеток.

По результатам данного исследования, мы можем предположить влияние везикул МСК на опухолевые сфероиды. Для изучения детальных механизмов данного влияния необходимы дальнейшие исследования.

Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030), за счет средств Российского научного фонда (грант № 21-74-10021).

ТРОФИЧЕСКАЯ И РАЗМЕРНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МУРАВЬЕВ ТРИБЫ CAMPONOTINI В МУССОННОМ ТРОПИЧЕСКОМ ЛЕСУ

Т. В. Попкова

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tatyana.popkovaptv@ya.ru

Одними из наиболее важных компонентов структуры многовидового сообщества муравьев является его трофическая организация и размерная структура. Для оценки трофической позиции видов зачастую используется анализ стабильных изотопов ^{15}N и ^{13}C . Ранее было показано, что для группы видов трибы Camponotini характерны низкое содержание $\delta^{15}\text{N}$, что указывает на их положение в основании трофических цепей, и широкий диапазон $\delta^{13}\text{C}$, который позволяет оценить степень их включения в пастбищные или детритные пищевые цепи. Установлено, что низкие значения $\delta^{15}\text{N}$ свойственны крупным видам муравьев со сходными размерами тела. Это может свидетельствовать о слабой роли размерной дифференциации в данном комплексе видов. Целью настоящей работы является оценка степени перекрытия изотопных ниш и анализ размерной дифференциации муравьев в сообществе тропического муссонного леса.

Материал собран в национальном парке Кат Тьен (Южный Вьетнам) в муссонном тропическом лесу с преобладанием *Dipterocarpus alatus*. Всего изучено 13 видов муравьев из 3 родов (*Camponotus*, *Colobopsis*, *Polyrhachis*) подсемейства Formicinae. Изотопный состав C и N определен ранее в ИПЭЭ РАН. Морфометрический анализ выполнен автором в модуле программы Gyrhax на микрофотографиях, полученных с помощью стереомикроскопа Carl Zeiss Stemi 2000C и камеры Jenoptik ProgRes Naos при увеличении 16–50x. Для каждого вида проведены измерения 3–6 рабочих особей по 5 признакам: длина и ширина головы, длина мезосомы, размер глаза и длина задней голени. Перед проведением анализа морфологические признаки были стандартизированы (за исключением длины груди). Статистическая обработка данных выполнена в среде программирования R.

На основе изотопных подписей установлено, что относительно обособленные изотопные ниши среди изученных муравьев занимает *Camponotus* sp. D (степень перекрытия изотопных ниш с другими видами менее 33%) и *Colobopsis saundersi* (менее 40%). Изотопная ниша *Camponotus* cf. *bedoti* в значительной степени перекрывается с изотопной нишей *Camponotus mitis* (56%), однако не перекрывается с нишами других видов *Camponotus*. Дифференциация изотопных ниш может быть следствием взаимодействия этих видов с разными группами трофобионтов. Остальные изотопные ниши видов *Camponotus* в значительной степени перекрываются (более 50%): *C. rufifemur* и *C. mitis* – 99%, *C. rufifemur* и *C. auriventris* – 97%, *C. irritans pallidus* и *C. mitis* – 90%, *C. auriventris* и *C. mitis* – 68%, *C. nicobarensis* и *C. irritans pallidus* – 56%, *C. irritans pallidus* и *C. auriventris* – 55%. Среди видов *Polyrhachis* перекрытие изотопных ниш наблюдается у *P. saevissima* и *P. armata* (75%), *P. cf. fruhstorferi* и *P. illaudata* (57%), *P. saevissima* и *P. cf. fruhstorferi* (51%). Расхождение изотопных ниш установлено у *P. armata* и *P. cf. fruhstorferi* (менее 34%).

Размерная дифференциация выражена между *Camponotus* cf. *bedoti* и *Camponotus* sp. D – перекрытие размерных ниш 38%, *C. auriventris* и *C. mitis* – 39%, *C. rufifemur* и *C. auriventris* – 46%, *C. irritans pallidus* и *C. auriventris* – 49%, *Colobopsis vitrea* и *Colobopsis saundersi* – 47%. Для остальных видов установлено значительное перекрытие размерных ниш, что указывает на отсутствие размерной дифференциации: *P. illaudata* и *P. saevissima* (55%), *P. armata* и *P. saevissima* (57%), *C. nicobarensis* и *C. irritans pallidus* (85%), *P. cf. fruhstorferi* и *P. saevissima* (88%), *C. nicobarensis* и *C. rufifemur* (92%), *P. armata* и *P. illaudata* (97%).

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю В.А. Зрянину за предоставленные материалы и консультации в ходе работы.

ПОЧВЕННАЯ ЗАСУХА ИЗМЕНЯЕТ ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ НА ФОТОСИНТЕЗ У ГОРОХА ПОСЕВНОГО

Попова А. Ю., Сухова Е. М., Сухов В. С., Юдина Л. М.

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
silverkumiho@mail.ru

Локальное повреждение растения может вызвать быстрые системные физиологические изменения за счет генерации и распространения электрических сигналов. Известно, что электрические сигналы влияют на многие физиологические процессы, включая фотосинтез, результатом этих изменений является повышение устойчивости растений к действию стрессоров. Вероятно, параметры электрических сигналов и быстрые физиологические изменения, вызванные этими сигналами, могут модифицироваться длительным действием стрессоров, однако этот вопрос мало изучен. Целью работы стало исследование параметров электрических сигналов, индуцированных ожогом, и их влияние на фотосинтез при недостатке влаги в почве.

В качестве объектов исследования были использованы 2–3-недельные растения гороха посевного (*Pisum sativum*). Растения выращивали на песке при 16-и часовом световом периоде и температуре +24°C. В контрольных условиях каждые 2 дня производили полив растений. При исследовании почвенной засухи производили оценку электрических сигналов, процессов фотосинтеза и устьичную проводимость листьев через 2 и 4 дня после прекращения полива. Параметры газообмена и водного обмена растений регистрировались с помощью системы, включающей инфракрасный газоанализатор GFS-3000, PAM-флуориметр Dual-PAM-100 и измерительную головку Dual-PAM gas-exchange Cuvette 3010-Dual (Heinz Walz GmbH, Германия). Распространяющийся электрический сигнал индуцировали локальным раздражением в виде ожога листа открытым пламенем (3–4 с., около 1 см²). Электрические сигналы регистрировали с помощью AgCl-макроэлектродов и усилителя МультиТест ИПЛ-113 (Семико, Россия).

Было показано, что недостаток влаги в почве снижает амплитуду вызванных ожогом сигналов, направленных в сторону деполяризации (вариабельный потенциал) и величину инактивации фотосинтеза (уменьшение фотосинтетической ассимиляции CO₂ и линейного потока электронов и увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла и циклического электронного потока вокруг фотосистемы I), вызванной этими сигналами. Кроме того, при сильном дефиците воды, могут наблюдаться индуцированные ожогом сигналы гиперполяризации (возможно, системный потенциал) и повышение фотосинтетической ассимиляции CO₂. Было показано, что вызванное электрическим сигналом увеличение устьичной проводимости листа может быть потенциальным механизмом активации ассимиляции CO₂ при сильном дефиците воды, этот механизм не является решающим для ответа фотосинтеза в контрольных условиях или при слабом водном дефиците. Таким образом, наши результаты показывают, что дефицит влаги в почве может сильно изменить электрические сигналы, вызванные повреждением, и быстрые физиологические ответы, вызванные этими сигналами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-74-10088.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭРИТРОНА У ДЕТЕЙ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

А. Н. Поповичева, А. К. Мартусевич, Э. Н. Федулова

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *alexandra.popovichus@yandex.ru*

Цель – выявить изменения реологических свойств и функционального состояния эритроцитов у детей с воспалительными заболеваниями кишечника.

Исследована кровь 120 детей в возрасте от 6 до 17 лет с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК). Изучали: спонтанную (поток-индуцированную) агрегацию эритроцитов и их дезагрегацию на реоскопе, сконструированном по принципу Schmid-Schönbein et al. (1973) (патент РФ №2278381), морфологию эритроцитарных агрегатов в поле зрения светового микроскопа, деформируемость эритроцитов в искусственном сдвиговом потоке (Авт. свид. №1377111, №1363065), декстран-индуцированную агрегацию эритроцитов на реоскопе, сконструированном по принципу Schmid-Schönbein et al. (1973) (патент РФ №2278381), состояние цитоскелета эритроцитов методом термоиндукции, средний объём эритроцита (mean cell volume, MCV), ширину распределения эритроцитов по объёму (red cell distribution width, RDW), среднее содержание гемоглобина в эритроците (mean cell hemoglobin, MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (mean cell hemoglobin concentration, MCHC) – на гематологическом анализаторе Hematology analyzer ABX Pentra 60 (HORIBA Medical, France). Результаты исследований сравнивали с аналогичными показателями 35 условно-здоровых детей обоих полов того же возраста, которые составили контрольную группу.

У всех обследованных больных выявлены существенные нарушения реологических свойств крови: деформируемости и агрегации эритроцитов. При этом жесткость мембран эритроцитов значительно увеличивается, следовательно, их деформируемость снижается по отношению к контролю в среднем с 90 до 67%, наблюдается увеличение степени и скорости агрегации эритроцитов (в 1,2 раза и 1,3 раза соответственно, $p < 0,05$), а также прочности эритроцитарных агрегатов – дезагрегация эритроцитов, особенно при малых скоростях сдвига, значительно снижается, что является наиболее важным моментом в нарушении микроциркуляции. При ВЗК значительно изменяется и характер агрегации эритроцитов – наряду с «монетными столбиками» появляются «глубчатые» (патологические) структуры агрегатов. У пациентов детского возраста с ВЗК выявлены существенные нарушения стабильного состояния цитоскелета эритроцитов, что проявлялось в значительном увеличении (практически в 1,5 раза) после термоиндукции количества сфероцитов по сравнению с группой контроля. Состояние мембран эритроцитов пациентов с ВЗК, определяемое декстран-индуцированной агрегацией этих клеток крови, также нарушалось. Также пациенты с ВЗК характеризуются значительным снижением MCV, возрастанием RDW (определяющим анизоцитоз); MCH и MCHC от значений здоровых детей практически не отличались.

Таким образом, ВЗК у пациентов детского возраста сопровождаются выраженными значительными нарушениями функциональных свойств крови, обуславливающих ишемические повреждения кишечника. Это дает основание для рекомендации использования при ВЗК дополнительных методов борьбы с гипоксией и нарушениями микроциркуляции, определяемыми свойствами эритроцитов.

ВЛИЯНИЕ АРХИТЕКТониКИ И ЖЕСТКОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА МОРФОЛОГИЮ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКОВ

А. Д. Поспелов¹, С. Д. Гефтер¹, Д. Б. Трушина^{2, 3}, Ю. М. Ефремов², И. В. Балалаева¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
eso103163@gmail.com

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8/2

³ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59/1

Децеллюляризованные матриксы предоставляют собой новую платформу для создания трехмерных опухолевых моделей *in vitro*. Децеллюляризация представляет собой процесс получения внеклеточного матрикса за счет удаления клеток из органов или тканей с сохранением нативной архитектоники и биомеханических свойств. Использование в качестве источника матрикса как нормальных, так и опухолевых тканей животных и человека позволяет изучать влияние физических и химических свойств матрикса на процессы метастазирования, развития устойчивости опухоли к препаратам, выявлять особенности опухоль-организменного взаимодействия.

Целью этой работы является изучение биомеханических свойств децеллюляризованных (ДЦЛ) матриксов ряда органов мыши и анализ возможной связи между их архитектурой и жесткостью и морфологией опухолевых клеток.

Для получения матриксов органы последовательно выдерживались в 0,5% растворе Тритона X-100, 0,5% растворе SDS, 1% растворе SDC и 0,075% растворе SDS. Временные промежутки составляли 1 час, 1 час, 1 час и 24 часа соответственно. Полученные образцы отмывались в фосфатно-солевом буфере сутки, после чего инкубировались на протяжении 72 часов в питательной среде DMEM с добавлением 30% сыворотки.

Для проведения рецеллюляризации каждый матрикс помещался в лунку культурального планшета с пониженной адгезией, после чего несколькими вколами $2 \cdot 10^6$ клеток линии SKOV-3 в 500 мкл полной ростовой среды распределялись внутри матрикса. Затем в каждую лунку добавлялось по 5 мл питательной среды Mc'Coys с добавлением 15% сыворотки. После начальной репопуляции матриксы икубировались при 37°C в атмосфере 5% CO₂ на протяжении 7 дней с повторной репопуляцией на 3 и 5 дни.

Для анализа архитектоники и биомеханических свойств матрикса была использована сканирующая электронная микроскопия (Hitachi™ 4000Plus), макроиндентация (Mach-1™ v500csst) и наноиндентация (Bioscope Resolve microscope). Для определения степени репопуляции был проведен стандартный гистоморфологический анализ, а также определение концентрации ДНК.

Матриксы органов мыши существенно отличались по жесткости (11–100 кПа). Наибольшей жесткостью обладает яичник, затем селезенка, почки, легкие и печень. Полученные результаты продемонстрировали, что в матриксах легких и печени, обладающих наименьшей жесткостью и наибольшим размером пор, было обнаружено наибольшее количество опухолевых клеток с выраженной мезенхимальной морфологией. Напротив, в матриксах селезенки и яичника, обладающих наибольшей жесткостью и мелкой пористостью, все обнаруженные клетки имели более эпителиальный фенотип, а их количество было довольно мало. Мы предполагаем, что применение опухолевых ДЦЛ моделей позволит более детально понять механизмы опухоль/матриксного взаимодействия и начальных этапов метастазирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проекты № 19-74-20168 и № 21-74-10058).

ВЛИЯНИЕ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ДИНАМИКУ ПРОРАСТАНИЯ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЯ

А. А. Празян, С. С. Дюженко, М. Ю. Подобед, П. Ю. Волкова

Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, 249032, Калужская обл., Обнинск, Киевское шоссе, 109 км; *prazyana@yahoo.com*

В качестве объекта исследования использовали оригинальные семена ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare*) сорта Фокс 1 (озимый ячмень), так как он обладает достаточным генетическим разнообразием для использования в качестве объекта исследования в данной работе. Сертифицированные семена всех сортов предоставлены ФГБНУ «АНЦ «Донской» (Зерноград, Россия), урожай 2019 года.

В эксперименте использовали 12 вегетационных сосудов, 3 контрольных и по 3 для каждой дозы (5, 10 и 15 Гр).

Источником γ -излучения являлась установка «Агат» с изотопом ^{60}Co . Использованные дозы: 5, 10, 15 Гр (0,93 Гр/мин). Облучение проводили на 7-й день после посадки.

После облучения ежедневно отслеживали смену фенологических фаз проросших растений. Оценка микрофенологических фаз проводилась путём определения стадий развития ячменя обыкновенного. Основой для определения стадий по выбранной шкале являются видимые невооружённым глазом фенологические признаки образования органов: прорастание; развитие листьев. Для каждого сосуда фиксировали количество растений в той или иной стадии развития.

Оценку флуоресценции хлорофилла проводили с помощью прибора MultispeQ V 2.0 (США), когда большинство растений ячменя находились на стадии роста листьев и набрали достаточную биомассу. С помощью флуориметра MultispeQ v2.0 были оценены основные параметры флуоресценции, включающие показания о максимальной/минимальной переменной флуоресценции в различных условиях и фазах, скорости потока протонов через АТФ-синтазу хлоропластов, различные показатели фотосистемы I и II и другие.

Обработку данных анализа микрофенологических фаз и построение схем скорости прохождения онтогенетических фаз осуществляли с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2019 и Adobe Illustrator. Анализ показателей флуоресценции хлорофилла и параметров урожайности выполнен в Microsoft Office Excel 2019. Значимость различий между облучёнными и контрольными растениями оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни в Statistica 10.0.

В ходе эксперимента выяснилось, что растения, облученные в данных дозах, продолжают нормальный рост и развитие. При этом растения, получившие дозу 5 Гр, показывают темпы перехода в последующую фазу значительно медленнее, чем контрольная группа. Группы, получившие дозу 10 Гр и 15 Гр, развивались в темпе, сходном с контрольными группами.

Сравнение биомассы побегов показало, что общая биомасса растений статистически значимо не изменялась, за исключением стимуляции роста у группы, получившей дозу 5 Гр.

При оценке фотосинтетических параметров у исследуемого сорта при воздействии γ -излучения статистически значимые изменения наблюдались при дозах 10 Гр и 15 Гр. Доза 10 Гр приводила к изменениям показателя «Leaf Temperature Differential», что может свидетельствовать об изменении скорости теплообмена листа с окружающей средой. При дозе 15 Гр статистически значимые различия отмечаются для показателя PS1 Oxidized Centers. Такие результаты могут свидетельствовать об увеличении количества окисленных центров в фотосистеме I.

Работа выполнена в рамках ФНТП развития генетических технологий № 075-15-2021-1068.

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ У ТУБЕРОИДНЫХ ОРХИДНЫХ В БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ИББМ ННГУ

А. М. Прокин, А. Е. Макарова, А. И. Широков, В. В. Сырова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
prokinam691@gmail.com

Орхидные (Orchidaceae) – редкие, требующие охраны растения. Тубероидные орхидеи – особая группа орхидных, объединяющие виды со стеблекорневым тубероидом в подземной части, приспособившиеся к сезонному климату с холодной зимой. Одной из причин их редкости является малочисленность особей в популяциях, что приводит к сокращению вероятностей перекрестного опыления. В связи с энтомофильностью этой группы и отсутствием механизмов, препятствующих межвидовой гибридизации (кроме узкой специализации опылителей), довольно часто наблюдается образование спонтанных гибридов в природных местообитаниях. Практическая значимость данной работы определяется растущим интересом растениеводов к тубероидным орхидным, которые представляют интерес как декоративные и лекарственные растения. Получение искусственных гибридов, имеющих высокий декоративный эффект, отобранных по принципу простоты культивирования, может внести существенный вклад в развитие декоративного растениеводства. Цель работы – изучение способности к гибридизации разных видов (родов) тубероидных орхидных европейской части России.

Исследование проведено на базе коллекции орхидных Ботанического сада ИББМ ННГУ, которая в настоящее время насчитывает около 100 таксонов. Объектом исследования послужили 8 видов тубероидных орхидей рода *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski (1937) (коллекция открытого грунта). В ходе эксперимента было осуществлено искусственное перекрестное опыление около 400 цветков с целью анализа способности тубероидных орхидных к гибридизации и последующего изучения особенностей развития семян. Для оценки жизнеспособности полученных семян был произведен посев 80 образцов коробочек, полученных в результате искусственного оплодотворения, на стерильные питательные среды в лаборатории *in vitro*.

Полученные экспериментальные данные по гибриднему опылению тубероидных орхидей показывают наибольшую долю плодообразования у гибридов *D. aristata* x *D. incarnata*, *D. baltica* x *D. traunsteineri*, *D. fuchsii* x *D. incarnata*, *D. traunsteineri* x *D. incarnata*, что свидетельствует об их близком родстве.

Результаты исследований развития плодов и семян демонстрируют относительно сходные темпы развития, однако, морфометрические показатели семян значительно варьируют у разных видов и их гибридов. Анализ жизнеспособности полученных семян методом проращивания *in vitro* показал положительную динамику развития протокормов у 18 гибридов, среди которых *D. aristata* x *D. fuchsii*, *D. baltica* x *D. traunsteineri*, *D. fuchsii* x *D. incarnata*, *D. fuchsii* x *D. traunsteineri*, *D. fuchsii* x *D. urvilleana*, *D. incarnata* x *D. traunsteineri* и *D. urvelliiana* x *D. fuchsii*. Данные гибриды можно считать наиболее жизнеспособными.

Таким образом, комплексные исследования межвидовой гибридизации тубероидных орхидных осуществляются впервые.

ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЦИТОХАЛАЗИНОМ В МЕМБРАННЫЕ ВЕЗИКУЛЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СО СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ TRAIL ИНДУЦИРУЮТ УВЕЛИЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ АПОПТОЗА В КЛЕТКАХ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т. В. Пухальская, Д. С. Чулпанова, В. В. Соловьева

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

В организме человека TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) регулирует иммунный гомеостаз и обеспечивает эффекторные функции иммунных клеток за счет избирательной индукции апоптоза в опухолевых клетках. При обеспечении иммунного ответа против опухоли TRAIL связывается с рецепторами смерти (TRAILR1/DR4 и TRAILR2/DR5), преимущественно экспрессирующихся на опухолевых клетках, и запускает процесс клеточной гибели. Предполагается, что доставка TRAIL посредством внеклеточных везикул является высокоэффективным способом для доставки TRAIL в опухолевое микроокружение и индукции апоптоза.

Образование мембранных везикул (МВ) из нативных мезенхимных стволовых клеток (МСК) и МСК со сверхэкспрессией TRAIL индуцировали с использованием цитохалазина В (иМВ). Для того чтобы оценить способность иМВ индуцировать апоптоз в клетках трижды негативного рака молочной железы MDA-MB-231, иМВ (50 мкг/мл) добавляли к $5 \cdot 10^4$ MDA-MB-231. После 24 ч культивирования оценивали уровень экспрессии апоптотических генов *CAS3*, *Bcl2*, *BAX* с помощью qPCR.

Полученные результаты демонстрируют, что через 24 часа культивирования экспрессия мРНК гена *CAS3* в образце иМВ-TRAIL была увеличена в 2,1 по сравнению с нативными MDA-MB-231. Экспрессия гена *Bcl2*, белок которого отвечает за подавление апоптоза, была повышена в 2,7 раз в образце иМВ-TRAIL по сравнению с контрольными MDA-MB-231. В то же время экспрессия мРНК проапоптотического гена *BAX* была также увеличена в 3,1 раза, что говорит об активации апоптотического пути и стимуляции гибели клетки.

Полученные результаты указывают на активацию и передачу сигналов по пути индукции апоптоза в клетках MDA-MB-231 при совместном культивировании с иМВ-TRAIL. Таким образом, применение иМВ-TRAIL может быть эффективным в терапии рака молочной железы.

Работа выполнена за счет средств программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и при поддержке гранта Российского научного фонда № 18-74-10044.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК УПРУГОСТИ И ЭХОГЕННОСТИ ЖЕЛАТИНОВЫХ ФАНТОМОВ С ПОМОЩЬЮ КРАХМАЛА

В. В. Пыrkова, П. М. Синицын, Ю. В. Синицына, И. Ю. Демин

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
valya.pyrkova@gmail.com

В ультразвуковой диагностике используются структуры, имитирующие ткани и органы, называемые фантомами. Они применяются для проверки качества работы оборудования, а также для обучения медицинского персонала и проведения научных модельных экспериментов.

Широкое применение получили желатиновые фантомы, потому что желатин, являясь природным белком, позволяет хорошо имитировать структуру тканей и органов. Но сам по себе этот материал не обладает эхогенностью, поэтому в рецептуру таких фантомов требуется включение дополнительных компонентов. Имитировать эхогенность тканей и органов человека можно с помощью добавления в желатин крахмала или карбоната кальция, поэтому целью работы было исследование методов моделирования эхогенности желатиновых фантомов.

Была приготовлена серия фантомов из 5% и 10% желатина, содержавших карбонат кальция с добавлением / без добавления 4% крахмала. В отдельной серии экспериментов варьировали обработку крахмала. В одном варианте, согласно стандартным протоколам, крахмал вместе с желатином нагревали на водяной бане не выше 70°C, в другом – крахмал заваривали в небольшом количестве воды и затем добавляли в расплавленный желатин. Были измерены упругие свойства фантомов – модуль сдвига и модуль Юнга статическим методом по вдавливанию в образец жесткого шарика. На основании полученных значений силы давления рассчитывали модуль сдвига и модуль Юнга, решая задачу Герца о соприкосновении двух тел. Эхогенность фантомов определяли, снимая В-сканы на УЗИ-сканере SonoScape A6 (Китай).

Показано, что изменение концентрации желатина изменяло значение модуля упругости в 3 раза. Выявлено, что высокотемпературная обработка крахмала существенно изменила значения модулей упругости и модуля сдвига, а именно повысила их, в среднем, в 2,5 раза по сравнению с образцами, содержащими крахмал после низкотемпературной обработки. Следовательно, крахмал является не только компонентом, регулирующим эхогенность фантома, но и значительно модулирующим его упругие свойства.

При исследовании на УЗИ-сканере первой серии фантомов из 5% и 10% желатина, содержавших карбонат кальция с добавлением / без добавления 4% крахмала во всех фантомах была обнаружена узкая полоса с ярко выраженной эхогенностью, соответствующая осевшему карбонату кальция. Кроме того, фантомы, содержащие крахмал, принципиально отличались от бескрахмальных наличием эхогенности. При исследовании на УЗИ-сканере второй серии фантомов, когда варьировалась обработка крахмала, выявлено, что процедура температурной обработки крахмала существенно изменяет эхогенные свойства фантомов. При прогреве крахмала только до 70°C эхогенность имеет место, но она неравномерна и увеличивается от верха – места контакта с сенсором – до нижней части фантома, что свидетельствует об оседании крахмала в процессе его застывания. В случае заваривания крахмала эхогенность по всему образцу более выровнена.

Таким образом, карбонат кальция неэффективен в качестве эхорассеивающего материала при изготовлении фантомов на основе желатина. Высокотемпературная обработка (заваривание) крахмала позволяет моделировать как свойства эхогенности, так и характеристики упругости желатиновых фантомов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛУЧЕННОГО ИЗ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРЕПАРАТА МОДИФИЦИРОВАННОГО ГЕМИНОМ СЫВОРОТОЧНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А НА ФАГОЦИТОЗ НЕЙТРОФИЛОВ

Е. А. Раззорова, Т. С. Чурина, Е. Н. Горшкова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

elizavetarazzorenova1966@yandex.ru

Выраженные иммуномодулирующие и противовоспалительные свойства иммуноглобулиновых препаратов зарекомендовали их в лечении заболеваний, сопровождающихся дефицитом гуморального звена адаптивного иммунитета или вызывающих общую дисфункцию иммунитета. Повышение эффективности иммуноглобулиновых препаратов является одним из важных направлений по улучшению терапии, основанной на их применении. Комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИП) получают из коллективной плазмы нескольких тысяч доноров, благодаря чему достигается большое разнообразие репертуаров специфичностей антител. Особенностью КИПа является относительно высокое содержание иммуноглобулина А (IgA) (15–25%), тогда как в других препаратах он обычно находится в следовых количествах, а преобладающим является IgG (95%). Но именно IgA представляет особый интерес, поскольку в зависимости от характера взаимодействия со своим рецептором (FcαRI) он может выполнять как гомеостатическую функцию, так и опосредовать мощные воспалительные реакции. Ранее было установлено, что обработка IgA гемином (комплексом протопорфирина IX и железа) ограничено расширяет спектр распознаваемых антигенов *Escherichia coli* в рамках явления, называемого полиспецифичностью. Однако неизвестно может ли такая модификация повлиять на эффекторные функции IgA, опосредованные взаимодействием с FcαRI. Активно экспрессируясь на нейтрофильных гранулоцитах, FcαRI вносит существенный вклад в опосредованный IgA фагоцитоз бактерий, а поэтому играет важную роль в элиминации патогенов. Таким образом, целью работы явилось исследование влияния обработки гемином сывороточного IgA, выделенного из КИП, на фагоцитоз нейтрофилами клеток *E. coli*.

В работе были использованы: сывороточный IgA1 человека, выделенный из КИПа (Микроген, Россия) хроматографическим способом с помощью агарозного жакалина Пирса (Thermo Scientific, США); раствор гемина (предоставлен лабораторией иммунопатологии и иммунотерапии Centre de Recherche des Cordeliers, Франция). Растворенный в PBS (pH 7,4) IgA1 (2,5 мг/мл) обрабатывали гемином в молярном соотношении 1:10 (30 мин, 4°C). Нейтрофилы выделяли из периферической крови условно здоровых добровольцев в градиенте фиколл-урографина. Для оценки фагоцитарной активности нативный и обработанный гемином IgA1 инкубировали (30 мин, 37°C) с инактивированными нагреванием FITC-мечеными клетками *E. coli* BL 21 ($1 \cdot 10^8$ кл/мл), а затем с нейтрофилами (1 ч, 37°C), которые также дополнительно стимулировали (15 мин, 37 °C) с помощью TNF-α (25 нг/мл на $1 \cdot 10^6$ кл/мл) и LPS (100 нг/мл на $1 \cdot 10^6$ кл/мл). Производили цитофлуориметрическую оценку каждые 10 мин в течение 1 часа. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием критерия Манна-Уитни. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. В ходе работы не было выявлено статистически значимых отличий в % нейтрофилов, фагоцитирующих клетки *E. coli*, обработанные нативным или гемин-модифицированным IgA. В то же время интенсивность флуоресцентного сигнала от поглощенных нейтрофилами FITC-меченных бактерий, опсонизированных гемин-модифицированным IgA, имела статистически значимые отличия от образцов с нативным IgA. Так, обработка антител гемином уменьшала флуоресценцию в первые 20 минут для неактивированных нейтрофилов и в первые 10 минут для активированных. Таким образом, в ходе работы было установлено, что обработка гемином IgA не оказывает влияние на количество вовлекаемых в фагоцитоз нейтрофилов, однако снижает количество поглощаемых фагоцитами FITC-меченных клеток *E. coli*.

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ОБРАБОТКИ НИЗКОЧАСТОТНЫМИ МАГНИТНЫМИ ПОЛЯМИ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ, СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА И ПШЕНИЦЫ

Ю. В. Ракова, В. М. Кошечева, Е. А. Кальясова, Ю. В. Сеницына, Н. С. Мшенская

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

rakovau16@mail.ru

Резонанс Шумана — это явление образования стоячих электромагнитных волн сверхнизких частот между поверхностью Земли и ионосферой. Влияние данного физического фактора на биологические объекты до конца еще не изучено, но в настоящее время существует ряд исследований, которые доказывают, что низкочастотные магнитные поля могут оказывать воздействие на живые организмы. Предполагается, что переменное магнитное поле может изменять механизмы образования и утилизации свободных радикалов в клетке. В связи с этим, целью данного исследования было изучение влияния кратковременного облучения магнитными полями с частотами Шумановского диапазона (7,8 Гц; 14,3 Гц; 20,8 Гц) на активность ферментов, утилизирующих активные формы кислорода: каталазу, супероксиддисмутазу (СОД) и пероксидазу.

Объектами исследования являлись растения пшеницы мягкой яровой (*Triticum aestivum*), сорт Злата и гороха (*Pisum sativum*), сорт Альбумен. 14-дневные проростки растений делили на две группы: опытную и контрольную. Опытные растения помещали в магнитное поле (частота 7,8 Гц или 14,3 Гц или 20,8 Гц, напряженность 18 мкТл) на 30 минут. Контрольные растения находились в аналогичных условиях, но без магнитного поля. Для создания переменного магнитного поля использовали установку, состоящую из генератора, колец Гельмгольца и подсветки. Определяли активность каталазы по убыли пероксида водорода, СОД по реакции с нитросиним тетразолием и пероксидазы по реакции с 2,2'-азино-бис-3-этилбензотиазолин-6-сульфонатом (АБТС).

В растениях пшеницы был зарегистрирован большой ответ на магнитное поле с частотами Шумановского резонанса, растения гороха оказались менее чувствительными к изучаемому фактору. В растениях пшеницы активность каталазы возрастала при воздействии магнитного поля с частотами 14,3 и 20,8 Гц на, активность пероксидазы снизилась при воздействии поля с частотой 20,8 Гц, активность СОД при этом не изменилась. В растениях гороха не обнаружено изменений активности каталазы и СОД, наблюдали только возрастание активности пероксидазы при частотах 7,8 и 14,3 Гц.

Таким образом, низкочастотное переменное магнитное поле Шумановского диапазона влияло на метаболизм активных форм кислорода в клетках растений. Поскольку суммарная активность СОД оставалась на исходном уровне, а активность каталазы и пероксидазы значительно изменялась, можно предположить, что наибольшие изменения характерны для продукции пероксида водорода.

Работа выполнена при финансировании Министерством науки и высшего образования (соглашение № 075-15-2019-1892).

АНТИОКСИДАНТНЫЕ И РАДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПРИРОДНЫХ ПОРФИРИНОВ И КОМПЛЕКСОВ МЕДИ И СЕРЕБРА НА ИХ ОСНОВЕ

Е. Е. Расова¹, И. О. Вележанинов¹, Т. К. Рочева², И. С. Худяева², Д. В. Бельх²

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; *elrasova@mail.ru*

²Институт химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167000, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48

Нарушение окислительно-восстановительного баланса в организме сопровождается развитием многих заболеваний. В связи с этим поиск новых химических субстанций с выраженными антиоксидантными свойствами является разумным решением данной проблемы. Как известно, основной биологический эффект ионизирующего излучения обусловлен радиолизом воды и образованием активных форм кислорода. Этим фактом объясняется значительный интерес к антиоксидантам как веществам, способным оказывать защитное действие на организм в условиях радиационного воздействия. На сегодняшний день известно, что некоторые соединения, относящиеся к производным порфиринов, проявляли антиоксидантные и радиопротекторные свойства *in vitro* и *in vivo*. Однако есть мало работ, посвященных биологическому действию отдельных производных порфиринов (не в составе комплексного препарата) в культурах клеток. Целью нашей работы было изучение антиоксидантной и радиопротекторной активности производных хлорофилла *a*, дейтеропорфирина IX и порфиринов меди (II) и серебра (II) на их основе в человеческих клетках линии HeLa.

С помощью FMCA оценивалась выживаемость клеток в присутствии соединений при воздействии на клетки прооксиданта параквата и ионизирующего излучения. Оценка влияния семи соединений на выживаемость клеток линии HeLa при воздействии на них параквата показала, что наличие в питательной среде Ag-метилпирофеофорбида *a* в концентрации 10 мкМ и Cu-метилпирофеофорбида *a* в концентрациях 1 и 10 мкМ привело к статистически достоверному увеличению выживаемости клеток. Антагонистическое действие данных соединений по отношению к параквату свидетельствует об их антиоксидантной активности. Мы проверили Ag- и Cu-метилпирофеофорбиды на наличие радиопротекторных свойств в эксперименте с облучением клеток. Было установлено, что данные вещества не оказывают радиопротекторного эффекта: при увеличении дозы облучения индекс выживаемости клеток уменьшался в сравнении с необлученным контролем независимо от концентрации вещества в среде. Полученный результат может быть связан с тем, что производные порфиринов, проникая в клетку, накапливаются в митохондриях и лизосомах, но не проникают в ядро, о чем свидетельствуют данные флуоресцентной микроскопии. Известно, что цитотоксичность параквата обусловлена образованием свободных радикалов и перекисным окислением липидов в микросомальном и митохондриальном пространстве клетки. В то же время действие ионизирующего излучения затрагивает все клеточные макромолекулы, причем ключевой мишенью с точки зрения выживания клетки становится ДНК.

Таким образом, среди исследуемых нами химически модифицированных природных порфиринов и их металлокомплексов, Ag-метилпирофеофорбид *a* и Cu-метилпирофеофорбид *a* проявляли антиоксидантный эффект в отношении параквата в клеточной линии HeLa, однако не показали радиопротекторного действия.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЛАНИНА ИЗ ЛИШАЙНИКА *LEPTOGIUM FURFURACEUM*

А. Е. Рассабина¹, В. Р. Хабибрахманова^{1,2}, Ф. В. Минибаева¹

¹Институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31; *AERassabina@yandex.ru*

²Казанский технологический университет, 420015, Казань, ул. Карла Маркса, 68

В ответ на стрессовые условия, например, длительное воздействие УФ-излучения, в лишайниках запускаются механизмы защиты таллома от повреждений. В условиях стресса лишайники накапливают в структуре таллома пигменты, эффективно задерживающие излучение в УФ и видимой областях спектра. Особую роль в защите от светового стресса играют меланины. Меланины представляют собой высокомолекулярные полимеры фенольного происхождения. На примере высших грибов известно, что меланины способны проявлять антиоксидантную, антирадикальную, антибактериальную, фотопротекторную и хелатирующую активность. Настоящая работа посвящена изучению физико-химических свойств и антиоксидантной активности меланинов лишайников.

Меланин из лишайника *Leptogium furfuraceum* был получен стандартным методом щелочной экстракции с последующим кислотным осаждением (образец № 1). Кроме того, благодаря дополнительной стадии экстрагирования с использованием 70 % C₂H₅OH был получен образец меланина № 2. Массовые выходы для образцов № 1 и № 2, выделенных из лишайника *L. furfuraceum*, составляли 2% и 3,9 %. Таким образом, модификация протокола экстрагирования меланина позволила увеличить выход пигмента.

С помощью элементного анализа было установлено, что образец меланина № 1 содержал 49% С, 6,7% Н и 10,8% N. Соотношение С/Н, равное 4,6 показало, что данный пигмент относился к эумеланину. Рентгенофлуоресцентный анализ показал наличие в образце меланина №1 металлов I, II, III групп и неметаллов (P, S, Cl). В результате анализа парамагнитных свойств образца меланина № 1 из лишайника *L. furfuraceum* с помощью ЭПР спектроскопии были зарегистрированы сигналы с *g*-фактором 2.00299 ± 0.00005 и шириной линии $\Delta H = 3,5 \pm 0,1$ Гс, что указывает на наличие неспаренных электронов в структуре меланина. Методом ИК-спектроскопии было установлено, что образцы меланина № 1 и № 2 содержат гидроксильные и карбоксильные группы. Разница в интенсивности поглощений в области 1034 см^{-1} свидетельствовала о разной доли полисахаридов в структуре меланинов.

Методом колоночной хроматографии была выполнена очистка меланина лишайника от белков и полисахаридов. Разделение меланина на фракции эффективно происходило на Sephadex G-150. В профиле элюата наблюдались пики полисахаридов с различными молекулярными массами. Спектрофотометрическим методом установлено незначительное содержание белков. С помощью анализа степени восстановления стабильного радикала DPPH и фосфорно-молибденовым методом были оценены антиоксидантные свойства образцов меланинов № 1 и № 2 из лишайника *L. furfuraceum*. Показано, что для образца меланина №1 IC₅₀ составлял $310 \pm 1,1$ мкг/мл.

Таким образом, установлено, что образцы меланинов обладают выраженными антиоксидантными свойствами и это определяет перспективу их использования в качестве антиоксидантов в различных отраслях промышленности.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-34-90044 и гранта РНФ № 18-14-00198.

РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ФОТОСИНТЕЗА НА ОСНОВЕ МОДЕЛИ FARQUHAR-VON CAEMMERER-BERRY, ВКЛЮЧАЮЩЕЙ В СЕБЯ СВЕТОВОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Д. А. Ратницына, Е. М. Сухова, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
Dasha-lola1997@mail.ru

Растения живут в сложной среде с непостоянными условиями, что может восприниматься как действие стрессора. К основным абиотическим стрессорам относятся избыточная солнечная радиация, засуха, избыток минеральных веществ и другие. Эти факторы оказывают воздействие на все процессы жизнедеятельности растений, в том числе и на фотосинтез, который является одним из ключевых процессов. Одним из эффективных методов изучения работы фотосинтетического аппарата и регуляции этой работы является математическое моделирование.

В ходе работы была построена математическая модель фотосинтеза на основе модели Farquhar-von Caemmerer-Berry (FvCB). Модель FvCB описывает работу темновой стадии фотосинтеза, а также, упрощенно, функционирование световой стадии, опираясь на представления о лимитирующем характере взаимодействия основных процессов фотосинтеза. Основной особенностью этой модели считается допущение о том, что скорость ассимиляции CO_2 зависит от самого медленного процесса, рассматриваемого в модели. Недостатком этой модели является слабая связь темновой и световой стадий фотосинтеза, а также отсутствие описания повреждения фотосинтетического аппарата при воздействии стрессора. Разработанная модель имеет в своем составе, как блок классической модели FvCB, так и блок, включающий в себе описание обратимого повреждения фотосинтетического аппарата. Можно выделить две основные мишени повреждения. Первая это части ЭТЦ, что приводит к изменению скорости потока электронов в ходе световой стадии. Второй мишенью является ассимиляция CO_2 , которая может быть связана с уменьшением активности РУБИСКО, при этом работа остальных ферментов допускается очень быстрой и не учитывается в описании.

Для параметризации и верификации модели использовались экспериментальные данные. Для эксперимента использовались двухнедельные проростки гороха посевного, выращенные гидропоническим способом при световом режиме 16/8, 23°C. Для измерения фотосинтетической активности использовался второй сформировавшийся лист. Происходила одновременная регистрация параметров световой стадии (квантовые выходы фотосистем I и II, которые использовали для расчета потоков электронов через электрон-транспортную цепь, ETR и коэффициент нефотохимического тушения, q_N) и темновой стадии (фотосинтетическая ассимиляция CO_2), которую рассчитывали как разность между ассимиляцией в условиях освещения и в условиях темноты, содержание углекислого газа во внеклеточном пространстве (C_i), а также дыхания (R_d), которое измеряли как ассимиляцию в условиях темноты и взятую с обратным знаком. Регистрация показателей осуществлялась при помощи Dual-PAM-100 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany) и газоанализатора GFS-3000 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany). Интеграция обоих блоков осуществлялась с помощью измерительной головки Cuvette 3010-Dual (Heinz Walz GmbH), обеспечивающей поддержание заданной температуры в головке. Для оценки светового повреждения использовались интенсивности синего актиничного света (от 108 – до 758 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Разработанная математическая модель показала, что снижение активности темновой стадии фотосинтеза ведет к развитию повреждения фотосинтетического аппарата. Стоит отметить, что одновременное снижение активностей как световой стадии фотосинтеза, так и темновой, может приводить к меньшему повреждению фотосинтетического аппарата, чем снижение активности только темновой.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-76-20032).

ИЗУЧЕНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ MMP9 И MMP12 КАК ФАКТОРА РИСКА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ПАТОЛОГИЙ В ПОПУЛЯЦИИ ЖИТЕЛЕЙ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Л. О. Рашидова, В. М. Ильина, Е. В. Кондакова, К. В. Кучин, М. В. Ведунова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
leyla170701@gmail.com

Согласно данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти во всем мире. Изучение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) как детерминант генетической изменчивости пациентов актуально в рамках исследования патогенеза, предрасположенности к заболеваниям, эффективности лекарственных препаратов и терапии и является одним из шагов в сторону развития персонализированной медицины. Белки семейства матриксных металлопротеиназ (ММП) участвуют в деградации межклеточного матрикса в нормальных условиях, ремоделировании тканей, в развитии артрита и метастазировании, а также могут выступать в роли биологических маркеров различных патологических состояний, в частности, эндотелиальной дисфункции. Целью исследовательской работы было выявление возможных ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов генов MMP9 и MMP12 с клиническими проявлениями сердечно-сосудистых заболеваний.

Материалом для исследования являлась цельная периферическая венозная кровь здоровых добровольцев в возрасте от 20 до 84 лет. Геномную ДНК из клеток цельной крови выделяли с помощью набора реагентов «ДНК–Экстран–1» в соответствии с инструкцией производителя (Синтол, Россия). Определение полиморфизмов проводилось методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real-time PCR). В ходе работы использовали наборы для определения полиморфизмов Gln279Arg гена MMP9 (rs17576), Asn357Thr гена MMP12 (rs652438). Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы оценивалось методом многоканальной объемной сфигмографии на аппарате BOSO ABI–SYSTEM 100 (BOSCH + SOHN GmbH u. Co. KG, Германия).

При анализе полиморфизма гена MMP9 найдено достоверно значимое повышение показателей систолического и диастолического артериального давлений в группе лиц с генотипом AA по сравнению с генотипом AG. Кроме того, у лиц с генотипом AA среднее значение индекса массы тела достоверно выше, чем у лиц с генотипом AG, что является отдельным фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Значение пульсового давления выше в группе лиц с генотипом GG по сравнению с генотипом AG, также в группе лиц с генотипом GG чаще диагностировалась гипертония. При анализе полиморфизма гена MMP12 найдено достоверно значимое повышение показателя разницы артериального давления при измерении на правой и левой конечностях у лиц с генотипом AA по сравнению с лицами с генотипом AG. Это может свидетельствовать о патологических изменениях сосудистой стенки, в частности, асимметрия САД на руках может свидетельствовать о наличии доклинического атеросклероза.

Таким образом, проведенные исследования позволяют выявлять новые ассоциации изучаемых полиморфизмов с функциональным состоянием сердечно-сосудистой системы, что имеет важное клиническое значение и требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена в рамках проекта госзадания Министерства науки и высшего образования РФ № 0729-2020-0061.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЭФФЕКТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКИ-ИНДУЦИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Т. С. Редькин¹, М. О. Савюк¹, Д. В. Крысько¹⁻³, В. Д. Турубанова^{1, 2}, М. В. Ведунова¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
big.t.nsdav@outlook.com

²Лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT), факультет анатомии и реабилитации человека, Гентский университет, Гент, Бельгия

³Институт исследований рака, Гент, Бельгия

В настоящее время не разработано оптимальных методов борьбы с онкологическими заболеваниями, которые обеспечивали бы полное выздоровление пациента и гарантировали отсутствие рецидива. Модель иммуногенной клеточной смерти (ICD) подразумевает активацию противоопухолевой иммунной реакции в ответ на испускание молекул, ассоциированных с повреждением (DAMPs) вследствие гибели клетки. Фотодинамическая терапия (ФТД) – один из методов терапии злокачественных опухолей, который способен вызывать ICD.

Целью стала разработка модели для оценки возможности активации адаптивного иммунного ответа при использовании ФДТ *in vivo*.

Клеточная линия глиомы (GL261) культивируется в полной питательной среде DMEM (10% сыворотки крови, L-глутамин, пенициллин 1%, стрептомицин 1%) в CO₂-инкубаторе с поддержанием температуры и влажности. Для фотодинамического воздействия используются фотосенсибилизаторы тетра(арил)тетрацианопорфиразны с разными арильными заместителями (pz I-IV). Клеточная линия GL261 инкубируется в бессывороточной среде с добавлением одного из выбранных порфиразинов на протяжении 4 часов, после питательная среда заменяется на полную, клетки подвергаются фотодинамическому воздействию в дозе 20 Дж/см² и далее инкубируются 24 часа в CO₂-инкубаторе. Вакцинация мышей предполагает подкожную инокуляцию умирающих/мертвых клеток глиомы после фотодинамического воздействия с разницей введения 7 дней. С одной стороны мыши вводятся вакцина, а с другой - живые опухолевые клетки. Наличие и развитие опухолевого очага производится путем измерения объема опухоли на прививаемой стороне на протяжении 28-32 дней. Подавление развития опухолевого очага свидетельствует об активации иммунного ответа.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00716.

КАРОТИНОИДЫ МХА *HYLOCOMIUM SPLENDENS*: ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ГЕНЫ БИОСИНТЕЗА, ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ ПРИ АБИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ
**А. Г. Ренкова¹, В. Р. Хабибрахманова^{1, 2}, О. П. Гурьянов¹, В. М. Бабаев³, Ю. Н. Валитова¹,
А. Б. Мазина¹, Лексин И.Ю.¹, Кулинченко М.В.¹, Ф. В. Минибаева¹**

¹Казанский институт биохимии и биофизики, Казанский научный центр РАН, 420111, Казань, а/я 261; renkova@kibb.knc.ru

²Казанский технологический университет, 420015, Казань, ул. Карла Маркса, 68

³Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, 420029, Казань, ул. Академика Арбузова, 8

Способность растений адаптироваться к неблагоприятным условиям существования является необходимым условием выживания растений, сохранения генотипа и поддержания разнообразия флоры. Необходимо детальное знание о механизмах чувствительности и/или устойчивости видов растений к изменяющимся условиям внешней среды. Фундаментальной проблемой, решению которой направлена настоящая работа, является выявление роли каротиноидов в формировании стрессовой устойчивости высших растений. Перспективным подходом для решения проблемы повышения устойчивости растений является изучение механизмов стрессовой устойчивости «экстремофилов», в том числе мхов, высших несосудистых растений. Относительная простота анатомического строения и способность к выживанию в неблагоприятных условиях среды делают эти эволюционно-древние растения идеальными моделями для изучения механизмов адаптации. Наряду с универсальными стрессовыми механизмами растений, включающими быструю передачу сигналов, регуляцию транскрипции, ионный и осмотический гомеостаз и биосинтез защитных соединений и белков, бриофиты обладают уникальным спектром вторичных метаболитов, среди которых особое место занимают тетратерпеноиды – каротиноиды. Основными представителями каротиноидов мхов являются α - и β - каротин, лютеин, нео-, виола- и зеаксантин. Количество и соотношение основных видов каротиноидов мхов отличается от такового высших сосудистых растений. В рамках настоящей работы с помощью метаболомного анализа идентифицированы каротиноиды лесного мха *Hylocomium splendens*. Проведен анализ изменений уровня транскриптов ключевых генов биосинтеза каротиноидов, в том числе различных изоформ генов *PSY* и *Z-ISO*, при абиотическом стрессе, индуцированном неблагоприятной температурой, действием тяжелых металлов и прооксидантов. Анализ зависимости изменений экспрессии генов биосинтеза каротиноидов с изменениями их содержания позволяет выявить закономерности стрессовой устойчивости мхов на молекулярном уровне. Полученные приоритетные данные расширят наше знание о механизмах устойчивости у мохообразных и будет способствовать пониманию эволюционных изменений стрессовой устойчивости высших растений.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-24-00595.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРОРОСТКОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ УРОЖАЙНЫХ СВОЙСТВ ЛЮПИНА ТАРВИ (*LUPINUS MUTABILIS*)

А. А. Ромашева¹, Ю. И. Кожуро¹, П. А. Пашкевич²

¹Белорусский государственный университет, 220030, Минск, просп. Независимости, 4;
annaromasheva353@gmail.com

²Центральный ботанический сад НАН Беларуси, 220012, Минск, ул. Сурганова, 2В

Одной из сложных и актуальных задач современного семеноводства и растениеводства является оценка качества и урожайных свойств посевного материала. Данную задачу можно решить при помощи метода «проростковой селекции», который заключён в оценке качеств семенного материала по степени развития органов проростков растений, формирующихся в водной культуре.

Целью работы являлось оценка возможности применения метода «проростковой селекции» в отношении растений люпина тарви.

В качестве объекта исследования использовались растения люпина тарви (*Lupinus mutabilis*) сортов «Визент» и «Дир», а также гибридная форма К-ЛМГ-БМО-ББГ-13. Для оценки морфофизиологических показателей проростков семена проращивали в бумажно-полиэтиленовых рулонах на отстоянной водопроводной воде в климатической камере КК-14-50 в течение 10 суток. В качестве показателей, характеризующих степень развития органов проростков, использовали следующие параметры: длина ростка, длина подсемядольного колена, длина корешка, количество боковых корешков и средняя длина бокового корешка одного растения. Урожайность образцов люпина тарви оценивали в селекционном севообороте Центрального ботанического сада НАН Беларуси в течение 2021 г. В качестве показателей урожайности использовали следующие параметры: количество семян на одном растении, масса семян с одного растения, масса 1000 семян, урожайность (г/м^2), урожайность по сухому веществу (г/м^2).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с расчетом выборочной средней и стандартной ошибки среднего. Межгрупповые различия анализировались непараметрическим методом с помощью критерия Уилкоксона, Манна-Уитни. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$. Зависимость между степенью развития органов проростков и показателями их семенной продуктивности растений люпина определяли с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена.

Проведенный анализ между степенью развития органов проростков и параметрами семенной продуктивности растений позволил выяснить, что длина ростка проростка тесно коррелировала с показателем средней массы семян, полученных от одного растения, а также с показателем массы 1000 семян. Высокая положительная коррелятивная связь наблюдалась между средней величиной длины подсемядольного колена проростков и средней массой семян, полученных от одного растения и показателем массы 1000 семян.

В ходе анализа установлена также высокая положительная корреляция между средней массой семян, полученных от одного растения, а также показателем массы 1000 семян и средним числом боковых корешков у проростка. Тесной зависимости между средней длиной главного корня проростков и показателями семенной продуктивности растений люпина не установлено. Наблюдалась невысокая положительная корреляция между средней длиной бокового корешка проростка и средней массой семян, полученных от одного растения.

Таким образом, при создании новых сортов люпина тарви (*L. mutabilis*) можно рекомендовать отбор растений по следующим параметрам проростков: длина ростка, длина подсемядольного колена, средняя длина бокового корешка и среднее число боковых корешков.

КРУГЛОСУТОЧНОЕ СВЕТОДИОДНОЕ ОСВЕЩЕНИЕ В КОНЦЕ ПРОДУКЦИОННОГО ПЕРИОДА ПОВЫШАЕТ ПИЩЕВУЮ ЦЕННОСТЬ МИКРОЗЕЛЕНИ

А. А. Рубаева, Т. Г. Шубаева, Е. Г. Шерудило

Карельский научный центр РАН, Институт биологии, 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11; leksa_2018@mail.ru

Микрозелень – новейший тренд мировой кулинарии и здорового питания. Изначально молодыми побегами только украшали готовые блюда, но проведенные исследования доказали исключительную ценность такой пищи для человеческого организма благодаря высокой концентрации антиоксидантов (каротиноидов, витамина С, полифенолов) и микроэлементов. Микрозелень (microgreens) и молодые листья растений (baby greens), несмотря на свои небольшие размеры, обладают интенсивным ароматом и используются в кулинарии для улучшения вкуса, цвета и текстуры различных блюд, а также как съедобный гарнир или ингредиент салатов. Сегодня выращивание микрозелени становится популярным видом агробизнеса.

Целью настоящей работы было проверить гипотезу о том, что повышения качества продукции микрозелени можно достичь, применяя в конце продукционного периода выращивания, то есть перед сбором урожая, режим круглосуточного освещения (24-ч. фотопериод).

Объектами исследования служили четыре вида семейства Brassicaceae: брокколи (*Brassica aleracea* var. *italica*), мизуна (*Brassica rapa nipposinica*), редис (*Raphanus sativus* var. *radicula*) и рукола (*Eruca vesicaria sativa*). Растения выращивали в камерах искусственного климата при температуре +23°C. Освещение обеспечивалось светодиодными (LED) лампами (соотношение красного и синего света 3:1) в течение 16 ч фотопериода. ФАР составляла 270 мкмоль/(м²·с). Часть растений в течение последних 3 суток продукционного цикла (перед сбором урожая) освещали круглосуточно (24-ч. фотопериод).

Растения всех четырех видов, подвергавшиеся в последние трое суток действию круглосуточного освещения имели большую биомассу и более высокий индекс робастности (от англ. “robust” – крепкий). У всех исследованных видов также отмечено ускорение развития, проявившееся в более раннем появлении первого настоящего листа. Круглосуточное освещение привело к развитию легкого окислительного стресса у растений, что зафиксировано по уровню перекисного окисления липидов и содержанию перекиси водорода. При этом отмечено, что такие растения накапливали больше антоцианов и флавоноидов и имели более высокую активность антиоксидантных ферментов (каталазы, аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы). Это повышает питательную ценность микрозелени, которую можно использовать в качестве функционального продукта (“functionalfood”) для здорового питания. Функциональными считаются продукты, которые имеют потенциально положительный эффект на здоровье за рамками основного питания.

Таким образом, выращивание растений с применением режима круглосуточного освещения в конце продукционного цикла может быть использовано для экономически эффективного производства микрозелени брокколи, мизуны, редиса и руколы с повышенной пищевой ценностью.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №20-016-00033а.

ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ И ФИТОГОРМОНОВ НА РОСТ СУСПЕНЗИОННЫХ КЛЕТОК ГОЛУБИКИ ЩИТКОВОЙ И ПРОДУКЦИЮ ИМИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Д. А. Рыбин, А. А. Исмаилова, М. В. Ларина, Я. А. Ветрова, Е. В. Березина, А. А. Брилкина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

ivan.rybin.1990@mail.ru

Суспензионные культуры голубики являются удобным объектом для исследования влияния различных факторов на рост и синтез фенольных соединений. Фитогормоны являются одними из основных и крайне важных регуляторов роста, морфологии, и синтеза фенольных соединений для суспензионных клеток. Гидролитические ферменты способны ослаблять контакты между клетками в суспензии, снижая агрегированность и повышая тем самым доступность питательных веществ для единичных клеток. Целью работы являлось получение суспензионной культуры клеток *Vaccinium corymbosum* и анализ ее способности к накоплению фенольных соединений при влиянии гидролитических ферментов и различного сочетания фитогормонов.

Суспензионные культуры *V. corymbosum* были получены из листовых каллусов, индуцированных из стерильных растений, размножаемых *in vitro*. Инициация суспензионной культуры проводилась на питательной среде WPM с фитогормонами 2,4-Д и БАП в концентрациях 0,5 мг/л, в присутствии пектиназы или целлюлазы (0,01мг/мл и 0,001мг/мл соответственно). В дальнейшем для выращивания суспензионных культур использовали питательную среду WPM с различными фитогормонами: 2,4-Д и БАП, 2,4-Д и иП, НУК и БАП, НУК и иП (концентрация всех фитогормонов по 0,5 мг/мл), Концентрация клеток для посева составляла 1 тысяча живых клеток на 1 мл питательной среды. Выращивание культур проводили на свету с периодом 16 часов свет, 8 темнота, на орбитальных шейкерах с радиусом вращения 2 см и скоростью вращения 120 об/мин в течение 16 дней. По окончании цикла культивирования проводили анализ ростовых параметров и жизнеспособности клеток, а также определение уровня фенольных соединений (катехинов и проантоцианидинов).

Использование пектиназы позволило повысить жизнеспособность клеток как в первом пассаже, так и в последующих пассажах (до 80%). Также добавление пектиназы позволило понизить степень агрегации клеток. Однако культивирование суспензионных клеток голубики щитковой в присутствии в гидролитических ферментов в сочетании с фитогормонами 2,4-Д/БАП приводило к снижению сырой и сухой массы клеток, что отражалось и на уменьшении выхода фенольных соединений. Замена ауксина с 2,4-Д на НУК приводило к росту сырой и сухой массы клеток, при этом эффект усиливался в присутствии пектиназы. Максимальное накопление катехинов и процианидинов в суспензионных клетках голубики щитковой выявлено при использовании сочетания ауксина НУК и цитокинина изопентиладенина. Полученная суспензионная культура клеток голубики щитковой может являться перспективным источником ценных биологически активных фенольных соединений.

АКУСТИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ГИПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМИИ

Н. В. Рябова, Д. Д. Норкина, Г. В. Жаркова, Т. А. Веселова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nadezhda_ryabova_2000@mail.ru

Структурное ремоделирование эритроцитов в условиях гиперхолестеролемии может быть связано с накоплением в клеточной мембране холестерина, конечных продуктов липотоксического промежуточного метаболизма, что оказывает влияние на физико-химические свойства эритроцитов и их мембраны, как следствие, на реологические свойства крови. Структурно-функциональные перестройки эритроцитов (повышение вязкости и упругости мембраны, деформируемость, способность к агрегации и др.) могут свидетельствовать о тяжести гиперхолестеролемии, наличии гипоксических повреждений тканей.

В комплексной диагностике гиперхолестеролемии и анализе ее осложнений актуален поиск эффективных экспресс-методов оценки реологических параметров эритроцитов, позволяющих моделировать их поведение в сосудистой системе и способность снабжения тканей кислородом. Акустический анализ физических параметров эритроцитов позволяет точно, быстро и с затратой малого числа реагентов оценить упругие свойства клеток в целом и их поверхности, а также их агрегационные свойства.

Материалами исследования служили образцы крови пациентов с гиперхолестеролемией – 42 образца. В качестве контроля использовали образцы крови практически здоровых доноров – 28 образцов.

Исследование содержания общего холестерина, ЛПНП, триглицеридов в крови выполняли ферментативными фотометрическими методами с использованием наборов реагентов «Диакон-ДС». Исследования упругости и скорости агрегации эритроцитов проводили на акустическом анализаторе «БИОМ». Основой прибора является ультразвуковой интерферометр постоянной длины. С помощью данного метода исследовали изменения скорости распространения продольных ультразвуковых волн (в диапазоне частот 6–9 МГц) в плазме и цельной крови (АКП).

В представленной работе у пациентов с гиперхолестеролемией (содержание холестерина в плазме не менее 6,4 моль/л) показано статистически значимое повышение упругости эритроцитов по сравнению с показателем у практически здоровых доноров, что может свидетельствовать об осложнении прохождения эритроцитов через узкие капилляры и наличии гипоксического повреждения тканей.

Увеличение содержания холестерина в мембране эритроцитов при гиперхолестеролемии является причиной липидной асимметрии, эритроциты теряют заряд, что, в свою очередь, приводит к агглютинации и слипанию эритроцитов и, тем самым, к более высокой скорости их оседания. В образцах крови практически здоровых доноров процесс агрегации эритроцитов достаточно медленный, о чем свидетельствовало снижение акустического параметра крови (АКП) через 200 с. после начала измерения. У пациентов с гиперхолестеролемией начало агрегации эритроцитов (снижение АКП) наблюдали в среднем через 90 с. измерения акустического параметра клеток. Длительность всей процедуры измерения составляла 240 секунд.

Таким образом, у пациентов с гиперхолестеролемией акустическим методом обнаружено повышение упругих и агрегационных свойств эритроцитов, что свидетельствует о наличии нарушений реологических параметров крови, как следствие, гипоксии тканей. Полученные результаты позволяют предположить возможность использования акустических параметров эритроцитов в комплексной диагностике дислипидемий.

ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ *OXYCOCCUS PALUSTRIS*

А. А. Сабанцева, О. М. Конюхова

Поволжский государственный технологический университет, 424000, Йошкар-Ола,
пл. Ленина, 3; sabanceva.a@mail.ru

Известно, что суспензионная культура является альтернативным источником ценных биологически активных веществ, таких как органические кислоты, антоцианы, сахара, антиоксиданты, витамины, фенольные соединения и др. В настоящее время методы биотехнологии позволяют получать вторичные метаболиты в культуре *in vitro* растений. Данный подход имеет ряд преимуществ перед традиционным способом. Получение биомассы происходит независимо от сезона, почвенных и климатических условий, а также простоте экстракции и очистки препаратов, усилению биосинтеза нужных веществ с помощью подбора условий культивирования. Способность культуры *in vitro* продуцировать широкий спектр вторичных метаболитов, синтезируемых в растениях *in vivo*, связано со свойством тотипотентности, т.е. с сохранением полной генетической информации о путях их биосинтеза и возможностью ее реализации. Целью данного исследования является изучение биохимического состава растения *Oxycoccus palustris* в культуре *in vitro* и сравнение его с интактным растительным сырьем.

Суспензионную культуру выращивали на питательной среде Woody Plant Medium (WPM) в течение 2,5 месяцев. Количественное содержание биологически активных веществ в биотехнологическом сырье (*in vitro*) и ягодах (*in vivo*) *O. palustris* проводили согласно методикам, приведенным в Государственной фармакопее IV. Для определения антиоксидантной активности (радикальной активности) экстракта мы использовали DPPH (ДФПГ). Все биохимические исследования проводились в трех повторностях для каждого образца.

В результате спектрофотометрии было установлено, что процент антиоксидантной активности (АОА) в суспензионной культуре составляет 89,83, а в ягодах клюквы – 25,03; антоцианов – 7,82 и 6,76 соответственно. С помощью титриметрического метода было определено содержание аскорбиновой кислоты (витамина С), так в культура *in vitro* – 1,31 %, в интактном растении – 1,49 %.

В результате исследования в сырье *O. palustris*, выращенных различными способами (*in vitro* и *in vivo*), содержались идентичные биологические активные вещества (БАВ). По количественному содержанию аскорбиновой кислоты суспензионная культура клеток незначительно уступает растительному сырью, за исключением АОА, где показатель в суспензионной культуре превышает 3,5 раза.

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ HIF ПРОЛИЛГИДРОКСИЛАЗЫ В МОДЕЛИ ГИПОКСИИ *IN VITRO*

М. О. Савюк, А. А. Полозников, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
mary.savyuk@bk.ru

Гипоксия является одним из патогенетических процессов, протекающих при многих нейродегенеративных заболеваниях, включая ишемические повреждения, которые являются причиной 16% смертей во всем мире по данным ВОЗ. Таким образом, для разработки новейших лекарственных средств необходимо изучение механизмов, контролирующих концентрацию кислорода в клетке. Показано, что одним из основных звеньев в цепи молекулярного ответа клетки на гипоксию является работа индуцируемого гипоксией фактора (HIF), содержание которого контролируется гидроксилазами HIF (PHD). Фармакологическое ингибирование PHD может оказывать терапевтическое и нейропротекторное действие при ишемическом повреждении.

Целью нашей работы явилось изучение возможного нейропротекторного эффекта ингибитора PHD при моделировании гипоксии *in vitro*. В ходе работы было проведено исследование функциональной активности первичных культур нервных клеток гиппокампа мыши методом флуоресцентного кальциевого имиджинга. Регистрация динамики кальция в нервных клетках считается наиболее информативным методом для изучения метаболической активности нейронной сети. Моделирование нормобарической гипоксии проводилось на 14 день культивирования. Ингибитор PHD D014-0053 апплицировался в культуральную среду во время и сразу после моделирования острого эпизода нормобарической гипоксии в концентрации 0,5 мкМ. На 7 сутки постгипоксического периода (21 день культивирования *in vitro*) в интактных культурах наблюдалась спонтанная кальциевая активность, которую проявляло 74,73±5,44% клеток. В группе «Гипоксия» активность была достоверно снижена (42,16±7,17% клеток). При аппликации ингибитора PHD в постгипоксическом периоде спонтанная кальциевая активность составляла 35,78±9,95%. Для оценки работы нейрон-глиальных культур важным является не только характеристика каждой индивидуальной клетки, но и сети в целом. Самым показательным параметром является корреляция профиля кальциевой активности разных клеток. Высокие уровни корреляции (>0,5) считаются показателем наличия нейронной сети в культуре. Интактная культура является высокоррелированной (уровень корреляции 0,51±0,04). Было показано, что применение ингибитора PHD достоверно увеличивает уровень корреляции по сравнению с группой «Гипоксия» (уровень корреляции 0,32±0,07 и 0,12±0,01 соответственно). Таким образом, мы показали, что применение ингибитора PHD в концентрации 0,5 мкМ не увеличивает долю активных клеток по сравнению с группой «Гипоксия», но способствует сохранению функциональных взаимосвязей между сохранившимися активными клетками.

Дальнейшие исследования будут направлены на более глубокое изучение роли PHD в активации адаптационных и репарационных процессов в клетках нервной системы при гипоксическом повреждении.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-75-10071-П.

ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕЛОМЕРНОЙ ДНК У МОХООБРАЗНЫХ РОДА SPHAGNUM***А. В. Санникова¹, М. Р. Шарипова¹, Е. В. Шакиров^{1,2}, Л. Р. Валеева¹***¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 420008, Казань, Кремлевская, 18;
*anastasya.sannikova@bk.ru*²Университет Маршалла, Хантингтон, Зап. Вирджиния, 25701 США

Теломеры — это специализированные нуклео-протеиновые структуры на концах линейных хромосом эукариотических организмов. Они выполняют важнейшую роль в защите концевых участков хромосом от действия экзонуклеаз, систем репарации клетки, а также слипания во время деления. Области теломер постепенно сокращаются с делением клеток, что коррелирует с индукцией клеточного старения, и по мере сокращения теломеры теряют свою защитную функцию. Функциональной характеристикой теломер является их длина. Длина теломер растений является видоспецифическим признаком, варьирующим в определенном диапазоне в популяциях, у индивидуальных организмов, а также в различных тканях. В царстве растений одной из перспективных групп в плане исследований молекулярно-генетических аспектов эволюции развития растений являются бриофиты, что связано с их принадлежностью к одной из наиболее древних существующих групп наземных растений. Мох *Sphagnum* является уникальным растением и может стать новым модельным организмом для молекулярно-генетических и эволюционных исследований. Кроме того, сфагнум распространен повсеместно в мире и занимает разнообразные экониши: тем самым, он может быть использован для широкомасштабных генетических исследований с применением подходов полногеномного поиска ассоциаций GWAS, наравне с *Arabidopsis thaliana*.

Целью работы было: определение естественной варибельности длины теломер у представителей рода *Sphagnum* и идентификация внутривхромосомных теломерных тандемных повторов на хромосомной ДНК. В работе были использованы природные изоляты сфагнума *S. fallax* MW (США), *S. girgensohnii* (Россия, Свердловская обл.) и *Sphagnum* sp. (Россия, РМЭ). Для анализа длины теломер использовали ДНК, выделенную из гаметофоров сфагнума. Геномную ДНК из растений выделяли по стандартному методу. Анализ длины теломер проводили методом TRF совместно с Саузерн-блот анализом. Измерение длин теломер проводили с помощью программы TeloTool. Идентификацию внутривхромосомных теломерных тандемных повторов на хромосомной ДНК проводили методом экзонуклеазной рестрикции с использованием фермента Bal31. Нами было показано, что длина теломер сфагнума *S. fallax* MW в среднем составляет от 1880 до 2000 п.о., что сравнимо с нижней границей длины теломер покрытосемянного модельного растения *A. thaliana* экотипа Columbia, длина теломер которого в среднем составляет от 2500 до 4500 п.о. Исследовали диапазон длины теломер у других представителей рода *Sphagnum*. У *S. girgensohnii* длина теломер в среднем составила ~ 2000 п.о. Однако несколько короче оказались теломеры у другого растения *Sphagnum* sp., длина теломер которого составила от 1100 до 1500 п.о. Кроме того, путем рестрикционного анализа было идентифицировано наличие внутривхромосомных теломерных последовательностей длиной ~ 2000 п.о. Однако подобная интерстициальная теломерная ДНК не была обнаружена у *Sphagnum* sp.

Таким образом, было показано, что, хотя длина теломер у различных представителей рода *Sphagnum*, использованных в исследовании, не характеризуется большими изменениями, однако различия обнаружены в наличии внутривхромосомных теломерных последовательностей ДНК. В дальнейшем мы планируем провести анализ длин теломер как у других видов рода *Sphagnum*, так и у различных экотипов *S. fallax*. Анализ длины теломер и изучение распределения внутривхромосомной теломерной ДНК у представителей сфагнума как новых модельных организмов позволит получить новые фундаментальные знания о регуляции и эволюции теломер растений.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 21-14-00147.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАННЕГО ОТВЕТА НА ХИМИО- И ИММУНОТЕРАПИЮ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОЙ МИКРОСКОПИИ FLIM
Д. А. Сачкова^{1,2}, Д. В. Южакова², И. Н. Дружкова², Н. И. Игнатова², А. М. Можеров², Г. М. Юсубалиева³, В. П. Баклаушев³, А. А. Горчаков⁴, К. С. Яшин², М. В. Ширманова²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

sachkova.collins@gmail.com

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

³ФНКЦ ФМБА России, 115682, Москва, Ореховый б-р, 28

⁴ИМКБ СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2

Глиобластома (Grade IV) является распространенной злокачественной опухолью головного мозга, отличающейся агрессивным ростом и низким процентом выживаемости. Для наиболее эффективной борьбы с глиобластомой необходима разработка персонализированных схем терапии с возможностью анализа раннего ответа на лечение. Одним из перспективных инструментов для оценки влияния терапии является анализ метаболического статуса опухолевых клеток с помощью визуализации времен жизни автофлуоресценции кофермента никотинамиддинуклеотида (фосфата) НАД(Ф)Н с использованием флуоресцентной микроскопии с временным разрешением FLIM.

Цель работы – исследование раннего ответа на химио- и иммунотерапию клеток глиобластомы на основе анализа автофлуоресценции методом FLIM.

Исследования проводились на первичных культурах клеток глиобластомы, выделенных из послеоперационных образцов опухоли пациентов. Исследование ответа на химиотерапию проводилось на 2D клеточных культурах. Жизнеспособность клеток после применения химиопрепарата Темодал (OrionPharma, Финляндия) оценивали с помощью МТТ-теста. Препарат добавляли в концентрациях от 10 до 800 мкМ. Моделью для клеточной иммунотерапии выступали 3D опухолевые сфероиды, к которым добавлялись NK-клетки с химерным антигенным рецептором CAR-EGFR в соотношении мишень : эффектор 1:1 (150 тыс NK на сфероид). Цитотоксичность NK CAR-EGFR оценивали с помощью окраски сфероидов на живые/мертвые клетки (Apoptosis/Necrosis Detection kit, Abcam) и визуализации на флуоресцентном микроскопе Leica DM IL LED. Ранний ответ глиобластомных клеток на терапию оценивали методом FLIM в канале НАД(Ф)Н (возбуждение 375 нм, регистрация в диапазоне 435–485 нм).

Были отработаны схемы противоопухолевой терапии. Установлено, что полуингибирующая доза (IC50) препарата Темодал составляет 476 мкМ через 72 ч. после добавления препарата в культуру. В отношении CAR терапии показано возрастание фракции погибших опухолевых клеток спустя 5 часов после сокультивирования опухолевых сфероидов с CAR-EGFR NK-клетками с 11% до 36%, а спустя 24 часа – до 63%. Метод FLIM позволил установить, что разработанные схемы терапии приводили к статистически значимому возрастанию среднего времени жизни флуоресценции НАД(Ф)Н в опухолевых клетках с $0,88 \pm 0,02$ нс до $1,01 \pm 0,01$ ($p=0,001$) для химиотерапии и с $0,82 \pm 0,01$ нс до $0,89 \pm 0,02$ ($p=0,0351$) для CAR терапии. Результаты демонстрируют наличие метаболических сдвигов в клетках глиобластомы после проведения терапии, которые могут быть связаны с повышением интенсивности окислительного фосфорилирования или со снижением активности гликолиза в клетках.

Подход к оценке раннего терапевтического ответа опухолевых клеток с применением метода FLIM демонстрирует большой потенциал в области персонализированной терапии глиобластомы.

Работа поддержана грантами РНФ № 21-75-00098 (химиотерапия) и РФФИ №18-29-01022 (CAR терапия).

АНАТОМИЧЕСКАЯ 3D МОДЕЛЬ ВНУТРЕННИХ СТРУКТУР ГОЛОВЫ ЧЕЛОВЕКА

Н. В. Сгибнева, Е. В. Румянцева, Д. А. Фадеев, К. А. Кирьянова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

sas36@mail.ru, katurumyanceva@gmail.com

За последнее время 3D-технологии совершили настоящий прорыв, как в медицине, так и в образовании в целом. Использование подобных технологий способствует существенному повышению качества обучения, а также улучшает восприятие учебного материала. Ранее преподавателями анатомии и студентами были созданы и запатентованы анатомические 3D модели, а именно: «Функциональная модель гортани человека» (Патент на полезную модель № 191781 от 21.08.2019 г. Сгибнева Н.В., Стельникова И.Г. и др.), а также «Анатомическая модель стопы (подвижная)» (Патент на полезную модель № 342211 от 11.09.2020. Сгибнева Н.В., Стельникова И.Г.) На данный момент при помощи компьютерного моделирования создана сборно-разборная анатомическая 3D модель внутренних структур головы человека. На сегодняшний день в свободной продаже имеется значительное количество разнообразных анатомических муляжей и пособий, но данная модель не имеет аналогов на российском и зарубежном рынке. Имеющиеся модели не всегда отличаются высокой анатомической точностью, а значит, не могут быть использованы для учебного процесса в высшем учебном медицинском заведении. Разработанная нами анатомическая модель выполнена на основе данных МРТ живого человека, изготовлена при помощи 3D печати из полимерных материалов. Представляет собой комбинацию из сборно-разборных элементов, имитирующих синусы твердой мозговой оболочки, желудочки мозга (I, II, III, IV), а также базальные ганглии (хвостатое, чечевицеобразное ядро и бледные шары), расположенных на опоре-подставке. В местах крепления вышеуказанных структур установлены быстросъемные механические подставки-держатели, позволяющие с легкостью фиксировать или осуществлять разбор вышеуказанных структур. Данная анатомическая модель способствует повышению уровня визуализации при проведении практических занятий, т.к. понимание топографии смоделированных структур у обучающихся довольно затруднительно. Отмечаются трудности в формировании объемного представления о внутренних структурах головного мозга. Использование на практических занятиях по анатомии человека данной 3D модели позволяет сформировать у обучаемых не только четкое представление о данных анатомических образованиях, но и дает представление о взаиморасположении и размере анатомических структур. Это становится возможным, т.к. представленные в модели анатомические образования являются точными копиями анатомических структур, расположенных не только в голове человека, но это касается и глубоких структур полушарий большого мозга. Тот факт, что модель является полностью разборной повышает наглядность и позволяет детально изучить все анатомические аспекты анатомического образования, а также улучшить понимание о его функциональных особенностях. При обработке МРТ снимков, необходимых для создания сборно-разборной анатомической 3D модели возникли трудности с визуализацией конкретных структур, имеющих достаточно глубокое расположение в полушариях большого мозга, что привело к разработке специального интерактивного программного пакета – *Dicom2stl*. <https://github.com/dafadey/dicom2stl>, т.к. используемые нами программы *Blender*, а также *Paraview* оказались неудобны в данной работе. С их помощью не удалось выделить каждую анатомическую структуру в отдельности, а также визуализировать структуры в объеме. Использование данной анатомической 3D модели внутренних структур головы человека возможно для обучения в различных учебных заведениях медицинского профиля. Также немаловажным аспектом является невысокая себестоимость модели.

ВНУТРИИНДИВИДУАЛЬНАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

*А. М. Сенина, Д. Р. Хуснутдинова, М. И. Маркелова, Е. А. Булыгина, М. Н. Синягина,
О. В. Куприянова, Л. Ш. Нигматуллина, Г. Э. Сынбулатова, А. Ф. Муллахметова,
Т. В. Григорьева*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420021, Казань,
ул. Парижской Коммуны, 9; *anastasiahm@list.ru*

Кишечная микробиота – это сложное микробиологическое сообщество, которое развивается на протяжении всей жизни, а также имеет сильное влияние на организм хозяина. Неправильное питание, малоактивный образ жизни, зависимость от курения, чрезмерная гигиена, а также использование антибиотиков для борьбы с инфекционными заболеваниями приводит к уменьшению численности полезных бактериальных родов в кишечнике человека. Подобное уменьшение считается причиной высокой распространенности метаболических нарушений, включая ожирение, неалкогольную жировую болезнь печени, сахарный диабет 2 типа, сердечно-сосудистые заболевания и преждевременную смерть. На данный момент нет эффективной терапии, которая могла бы обеспечить долговременный сдвиг бактериального состава кишечного микробиома, а также нет понимания насколько стабильна микрофлора кишечника здорового человека. Целью нашего исследования явилось изучение стабильности профилей микробиома кишечника человека.

В настоящем исследовании представлены данные сравнительного анализа 17 условно-здоровых добровольцев, образцы кала которых отбирались на протяжении одного года ($n = 6$). Для анализа микробиоты выделяли ДНК из образцов с использованием набора MP FastDNA Spin Kit for Feces, проводили подготовку библиотек и секвенирование v3-v4 региона гена 16S рРНК на платформе Illumina MiSeq. Полученные риды были проанализированы с помощью программы QIIME v.1.9.1 с использованием референсной базы данных GreenGenes 13.8 с 97%-ным порогом сходства между последовательностями. Количество короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в кале здоровых добровольцев оценивалось методом газовой хроматографии на приборе Clarus 680 (PerkinElmer).

По результатам анализа данных микробиота кишечника человека в разных точках похожа на себя больше, чем на микробиоту других участников эксперимента. Однако, несмотря на индивидуальные паттерны, доля преобладающих бактериальных групп и индекса Шеннона могут сильно варьировать в течение года. В нашем исследовании после антимикробной терапии у одного из участников эксперимента уменьшилась доля родов *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Coprococcus*, *Faecalibacterium*, *Collinsella*, *Bulleidia* и увеличивалась доля родов *Blautia* и *Ruminococcus*. Нами также было проанализировано количество КЖК в каждой временной точке исследования. Самая сильная положительная корреляция КЖК с микробиотой была выявлена для семейств Prevotellaceae, о. Actinomycetales f. АСК.М1, Carnobacteriaceae, Succinivibrionaceae, Neisseriaceae, отрицательная – для семейств Christensenellaceae, Eubacteriaceae.

Исследование выполнено за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности 0671-2020-0058.

ВЛИЯНИЕ КОЛЛАГЕНА НА ИЗМЕНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К РАЗЛИЧНЫМ ВИДАМ ДЕПРИВАЦИИ И ДЕЙСТВИЮ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

Л. М. Сенча, О. Е. Добрынина, А. Д. Поспелов, И. В. Балалаева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
luda-sencha@mail.ru

Микроокружение опухоли в настоящее время рассматривается как один из важнейших факторов формирования фенотипа клеток, обеспечивающего существование и пролиферацию в условиях гипоксии и дефицита питательных веществ, а также резистентность клеток к воздействию цитотоксических соединений. Коллаген является основным компонентом микроокружения опухоли и может влиять на поведение опухолевых клеток через интегрины, тирозинкиназные рецепторы и некоторые сигнальные пути. Целью данной работы являлась оценка влияния коллагена I типа на изменение устойчивости опухолевых клеток к дефициту питательных веществ и гипоксии, а также к действию терапевтических агентов при культивировании клеток в монослое и коллагеновом гидрогеле.

В работе были использованы клетки карциномы яичника человека SKOVip-kat с геном красного флуоресцентного белка TurboFP635 и клетки эпидермоидной карциномы человека A431-GFP с геном флуоресцентного белка GFP.

Для оценки динамики роста клеток в условиях депривации в 2D-моделях опухолевого роста клетки высевали в 96-луночные планшеты. Через 24 часа клетки помещали в условия питательной депривации с заменой стандартной среды на среду без FBS/глюкозы или в условия низкого содержания кислорода (1% O₂). Определение жизнеспособности опухолевых клеток осуществляли с помощью МТТ-теста. Эффект оценивали в течение трех суток после начала деприваций. Для исследования влияния факторов микроокружения на 3D-модели опухолевого роста клетки были заключены в гидрогели коллагена, обогащенные питательной средой, путем смешивания клеточной суспензии с ингредиентами геля. Условия питательной и кислородной деприваций для коллагеновых гидрогелей создавались на 4 день культивирования. Гели, содержащие флуоресцентные клетки, визуализировали ежедневно используя установку для поверхностного флуоресцентного имиджинга в течение 8-10 суток. Помимо этого, было произведено сравнительное исследование устойчивости опухолевых клеток, культивируемых в монослое и коллагеновом гидрогеле, к действию цисплатина и направленного противоопухолевого токсина DARPIn-LoPE.

Для линии клеток A-431-GFP показано повышение устойчивости клеток к сывороточной депривации при переходе от 2D к 3D культивированию, в то время как для линии SKOVip-kat характерна обратная ситуация. Воздействие глюкозной депривации на матриксы с клетками A-431-GFP также приводит к повышению устойчивости клеток по сравнению с монослоем, в то время как SKOVip-kat показывают относительную нечувствительность к данному виду депривации. Анализ действия гипоксии на клетки, выращиваемые в коллагеновых гелях, показал, что клетки линии A-431-GFP существенно замедляют пролиферацию после запуска гипоксии, в то время как рост клеток SKOVip-kat в условиях гипоксии статистически значимо от контроля не отличается. Культивирование клеток в гидрогеле также привело к более высокой устойчивости к цисплатину или белковому токсину.

Таким образом, показано, что ответ клеток на депривацию и действие противоопухолевых агентов существенно изменяется в присутствии коллагена I типа, что важно учитывать при разработке методов противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-20168).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ *FE8* И *FE19* В ГРУППЕ *FORMICA S. STR.*

А. Д. Сергеева, А. Д. Перенков

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
AlenaSergeeva-1997@yandex.ru

Потребность в точной и надежной идентификации видов в таксономических и филогенетических целях ежегодно возрастает. Достижения в области молекулярной биологии позволили использовать ДНК-баркоды для определения различных таксонов живых организмов. Микросателлиты являются популярным и универсальным генетическим маркером со множеством применений в популяционной генетике и эволюционной биологии. Целью работы явилось изучение генетического разнообразия микросателлитных локусов *FE8* и *FE19* в подроде *Formica s. str.*

Материалом исследования явилась ДНК рабочих особей муравьев *Formica s. str.*: *F. rufa* (10 семей), *F. aquilonia* (7 семей), *F. polystena* (3 семьи), *F. lugubris* (6 семей), *F. truncorum* (5 семей) и *F. pratensis* (3 семьи). В качестве референсных использовались последовательности локусов *FE8* и *FE19* *F. (Coptoformica) exsecta*, задепонированных в базе данных NCBI раздел Nucleotide. Выделение ДНК проводили из головы и груди муравьев при помощи фенол-хлороформенного метода экстракции, затем осуществляли амплификацию исследуемых фрагментов с последующей детекцией в агарозном геле. Полученные продукты очищались с помощью агарозного геля и спин-колонок. В дальнейшем была проведена реакция терминации и спиртовое переосаждение ДНК. Затем осуществляли секвенирование исследуемых фрагментов по Сэнгеру. Анализ полученных последовательностей осуществляли в программе Mega X.

Проанализировали последовательности микросателлитов *FE8* и *FE19* муравьев *Formica s. str.* и *F. exsecta*. Внутривидовые отличия отсутствовали в обоих локусах. Обнаружено, что последовательности локуса *FE19* у видов *Formica s. str.* отличаются незначительно. Отличием является количество СТ-повторов на участке с 143 по 160 н.о. У *F. aquilonia*, этих повторов 9, тогда как у остальных видов из этого подрода – 8. Референсная последовательность микросателлита *FE19* отличается от исследуемой группы на 4 н.о. Внутригрупповая изменчивость составила 1,08%, межгрупповая 1,63% (1,08; 2,17). Статистических отличий между видами *Formica s. str.* и *F. exsecta* обнаружено не было. Вероятно, микросателлит *FE19* не позволяет разделять виды в исследуемой группе.

Последовательности микросателлита *FE8* исследуемой группы сходны. У *F. rufa*, *F. polystena* и *F. aquilonia* четыре GA-повтора (70–76 н.о.), у *F. lugubris*, *F. pratensis* и *F. truncorum* – три таких повтора (70–74 н.о.). У *F. rufa*, *F. polystena* и *F. aquilonia* затем идет 6 АТ-повторов (81–92 н.о.), у *F. lugubris* и *F. truncorum* 7 АТ-повторов (79–92 н.о.), а у *F. pratensis* – 8 таких повторов (79–94 н.о.). Уровень внутригруппового полиморфизма составляет 0,5% (0; 0,5). Нуклеотидная последовательность микросателлита *FE8* у *F. exsecta* отличается большим количеством замен в сравнении с исследуемой группой. 21–23 нуклеотиды у этого вида отсутствуют, тогда как у *Formica s. str.* здесь – нуклеотиды GTA. Уровень полиморфизма исследуемого гена между *F. exsecta* и *Formica s. str.* составляет 6,9% (6,6; 7,2). Показано, что уровень полиморфизма микросателлита *FE8* у видов *Formica s. str.* в 13,8 раз меньше, чем полиморфизм между ними и *F. exsecta* ($p < 0,05$).

Можно предположить, что микросателлитный локус *FE19* находится в кодирующей или регуляторной части, так как уровень изменчивости является достаточно низким. Высокий уровень полиморфизма микросателлита *FE8*, вероятно, позволяет использовать данный фрагмент ДНК для идентификации близкородственных таксонов, что делает его перспективным маркером для баркодинга.

Впервые полученные последовательности микросателлитных локусов *FE8* и *FE19* для изученных видов *Formica s. str.* задепонированы в базе данных GenBank.

СОЗДАНИЕ СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ МЕТИЛИРОВАНИЯ УЧАСТКОВ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНОВ *CSF1* И *MIG* ДНК ЧЕЛОВЕКА

А. Д. Сергеева, А. Д. Перенков, М. В. Ведунова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
AlenaSergeeva-1997@yandex.ru

Метилирование ДНК играет ключевую роль в определении функции генома, включая регуляцию экспрессии генов. Эта модификация относится к числу эпигенетических механизмов, которые позволяют интегрировать внутренние и внешние сигналы для формирования функций генома. Оценка степени метилирования может быть перспективным маркером для оценки биологического возраста и прогнозирования разных заболеваний.

Одними из генов, уровень метилирования которых может быть прогностическим для оценки биологического возраста и хронического воспаления, могут быть хемокин-индуцированный *INF-γ* (*MIG*) и макрофагальный колониестимулирующий фактор (*CSF1*), так как для них показана связь с клеточным старением. В связи с этим целью работы явилась разработка системы оценки метилирования фрагментов генов *MIG* и *CSF1*.

Материалом исследования послужили образцы периферической крови. Выделение ДНК проводилось при помощи коммерческого набора GeneJET (Thermo Fisher Scientific, США). После этого проводили бисульфитную конверсию с использованием набора EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, США). Затем осуществляли амплификацию исследуемых фрагментов. После этого проводили очистку ампликонов от нуклеотидов с помощью щелочной фосфатазы креветки (*SAP*) с последующим спиртовым осаждением. Следующим этапом явилась реакция MassCLEAVE (Agena Bioscience, США). Оценку метилирования проводили на масс-спектрометре MassARRAY с использованием технологии EpiTYPER (Agena Bioscience, США). Подбор олигонуклеотов осуществляли при помощи программного обеспечения EpiDesigner (Agena Bioscience, США).

Для промотора-энхансера гена *MIG* были подобраны праймеры, фланкирующие регион размером 448 н.о., в котором расположено 12 CpG-сайтов, 8 из которых может быть проанализировано при помощи системы MassARRAY. Для промотора гена *CSF1* были подобраны праймеры, фланкирующие регион 267 н.о., в котором расположено 11 CpG-сайтов, 8 из которых может быть проанализировано. Проводили выделение суммарной ДНК с последующей бисульфитной конверсией. Осуществляли подбор условий и состав реакционной смеси для амплификации. Для фрагмента гена *MIG* расчетная температура составила 58°C, для фрагмента *CSF1* - 57°C. Однако, эмпирическая температура для обоих фрагментов составила 54°C. При подборе состава реакционных смесей для ПЦР использовали реагенты разных производителей: наборы для проведения амплификации от Agena, Синтол и специфический буфер для амплификации GC-богатых регионов от Евроген вместе с HS-Taq полимеразой. Наиболее подходящим оказался специфический буфер для амплификации GC-богатых регионов от Евроген. Также при подборе состава реакционных смесей применяли ДМСО в концентрации 7% и 10% при использовании химии Синтол и Agena. Однако, добавление ДМСО не улучшило качество прохождения ПЦР. В отличие от рекомендуемого производителем протокола, было добавлено спиртовое переосаждение ДНК после проведения *SAP*-реакции, что позволило улучшить качество прохождения заключительного этапа. В результате оценки степени метилирования исследуемых фрагментов генов *MIG* и *CSF1* было выявлено, что все возможные CpG-сайты были проанализированы. Степень метилирования фрагмента промотора *CSF1* составила 7% (6; 15), степень метилирования фрагмента промотора-энхансера *MIG* составила 29% (15; 80).

Работа проведена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 074-02-2018-330 «Цифровая персонализированная медицина здорового старения (ЦПМ-старения): сетевой анализ больших мультиомных данных для поиска новых диагностических, предсказательных и терапевтических целей».

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРИРОДНОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ НА СПОСОБНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПИЩЕВОЙ ИНФЕКЦИИ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ПРОНИКАТЬ В КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Е. Е. Сергеева, С. А. Ермолаева

Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального исследовательского центра вирусологии и микробиологии, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3; sergeeva.sergeevakatyusha@yandex.ru

Листерия – это потенциально опасная инфекция пищевого происхождения со смертностью до 30%. В отличие от большинства пищевых инфекций, данное заболевание является редким, но очень тяжелым заболеванием, поскольку листериоз часто остается недооцененным на ранних стадиях. Этиологическим агентом листериоза является *Listeria monocytogenes*, грамположительная бактерия, которая загрязняет мясо, молочные продукты и готовую к употреблению пищу. Имеются сообщения о вспышках листериоза после употребления в пищу пищевых продуктов, инфицированных листериями. Существует два основных фактора вирулентности, ответственных за пересечение кишечного и плацентарного барьера – это белки интерналин А (InlA) и интерналин В (InlB), оба принадлежат к семейству белков интерналинов. К данному семейству также относятся еще несколько белков листерий, такие как интерналин С (InlC) и интерналин Е (InlE). Как и другие белки бактерий, белки интерналины имеют штаммоспецифичные изоформы.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы является оценка способности *L. monocytogenes* проникать в клетки млекопитающих в зависимости от изоформ белков интерналинов, выделенных из продуктов питания.

Объектом исследований служили 9 штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из продуктов питания Научно-исследовательским центром пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

В данной работе использовались методы качественной полимеразной цепной реакции, горизонтального электрофореза в агарозном геле, секвенирование ДНК, определения эффективности инвазии бактерий в эукариотические клетки.

Вначале, для каждого пищевого штамма *L. monocytogenes* были определены интерналиновые профили (IP), т.е. комбинации последовательностей генов, кодирующих 4 основных белка семейства интерналинов (InlA, InlB, InlC и InlE). Всего было выявлено пять интерналиновых профилей, среди которых доминирующим оказался IP-28, составляющий 44,4% от общего числа изолятов. IP-15 отличался от доминирующего тремя аллелями генов и составлял 22,2%. Остальные выявленные IP 27, 46, 48 составили по 11,1% каждый.

Исследуемые штаммы формировали два кластера на филогенетическом дереве. К первому кластеру относились штаммы *L. monocytogenes*, принадлежащие к IP-28. Ко второму – штаммы *L. monocytogenes*, принадлежащие к разным IP (15, 27, 46, 48).

В результате определения эффективности инвазии среди исследуемых штаммов *L. monocytogenes* в клетки линии HEp-2 было обнаружено, что максимальную эффективность инвазии показывал штамм *L. monocytogenes* 70, имеющий IP-15.

Таким образом, в результате работы было показано, что способность *L. monocytogenes* проникать в клетки млекопитающих отличается при разных изоформах белков интерналинов. Наибольшую инвазивную способность проявляет штамм *L. monocytogenes* 70, содержащий аллель 4 гена *inlA*, аллель 14 гена *inlB*, аллель 6 гена *inlC* и аллель 8 гена *inlE*.

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК У РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП МЫШЕЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕПРИВАЦИИ СНА

А. С. Серикова, Е. В. Кондакова, М. О. Новожилова, М. В. Ведунова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23
serikovaaleksandraa@gmail.com

Наряду с повсеместно возрастающей продолжительностью жизни изучение возраст-ассоциированных процессов в организме приобретает особую актуальность. Считается, что старение коррелирует с изменениями показателей метилирования ДНК. В частности, с возрастом наблюдается глобальное гипометилирование ДНК с гиперметилированием островков CpG. Согласно литературным данным, нарушение сна может активировать нейродегенеративные процессы и ускорять старение мозга. Реакция организма на депривацию сна, как фактора, усугубляющего старение, может различаться в возрастном аспекте. Кроме того, актуальным является вопрос изучения нейротрофических факторов в качестве способа защиты головного мозга и организма в целом от возрастной акселерации.

В связи с этим целью данного исследования стало изучение возраст-ассоциированных изменений уровня метилирования ДНК у разных групп мышей при моделировании депривации сна.

В работе использовалась кровь, полученная от 45 мышей (шестимесячные самки, $n=15$; двенадцатимесячные самки, $n=15$; двенадцатимесячные самцы, $n=15$). В каждой из трех групп, различающихся по возрасту и полу, выделяли следующие подгруппы: интактные мыши ($n=3$), мыши с обучением в водном лабиринте Морриса ($n=3$), мыши с хронической депривацией сна ($n=3$) и мыши с превентивным введением нейротрофических факторов BDNF ($n=3$) и GDNF ($n=3$). Хроническая депривация сна мышей проводилась согласно методике «малых площадок», разработанной Мишелем Жуве. Изучение показателей метилирования ДНК мышей проводили с использованием модифицированной методики «ДНК-комет» с оценкой уровня метилирования. Кровь животных наносили на гель-слайды с подложкой из тугоплавкой агарозы, клетки подвергали лизису в течение 16 часов, после чего проводили электрофорез единичных клеток в нейтральном буфере (35 минут, 400мА, 30В). Для оценки уровня метилирования ДНК гель-слайды обрабатывали изошизомерными рестриктазами Hpa II и Msp I (New England Biolabs, Великобритания). «ДНК-кометы» визуализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа ZEISS LSM 800 (Германия) с красителем DAPI. Измерение длины хвостов «ДНК-комет» проводили в компьютерной программе CometScore, среднее значение метилирования для каждой мыши рассчитывали по формуле: $x = 100 - 100 \cdot \text{HpaII/MspI}$.

В результате исследования выявлено, что реакции организма на депривацию сна сильно различаются в группах животных в зависимости от возраста и пола. Уровень метилирования ДНК при хронической депривации сна имеет тенденцию к незначительному снижению от молодого поколения самок ($20,450 \pm 2,565$) к более взрослому ($19,207 \pm 2,775$). У двенадцатимесячных самцов показатель метилирования ДНК при депривации сна ниже ($13,531 \pm 0,868$), чем у самок сопоставимого возраста. Применение нейротрофического фактора BDNF приводит к увеличению показателей метилирования у шестимесячных самок ($27,316 \pm 9,468$) и у двенадцатимесячных самцов ($43,916 \pm 1,896$). Применение нейротрофического фактора GDNF приводит к увеличению показателей метилирования ДНК у шестимесячных самок ($44,833 \pm 4,937$) и увеличению показателей у самцов ($20,577 \pm 1,487$).

Таким образом, проведенные исследования показали, что хроническая депривация сна приводит к значимому снижению уровня метилирования ДНК у животных, а применение нейротрофических факторов способно снизить эффекты, вызываемые хронической депривацией сна, что отражается на показателях метилирования ДНК.

Работа выполнена в рамках проекта госзадания Министерства науки и высшего образования РФ № 0729-2020-0061.

ЭКСПРЕССИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ВЫСОКОКОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА *Dras1*

Е. А. Сивопляс^{1, 2}, Е. Г. Белкина², О. Е. Лазебный², А. М. Куликов²

¹Московский педагогический государственный университет, 119991, Москва,
ул. Малая Пироговская, 1/1; sivoplyas-ekater@mail.ru

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26

Высококонсервативный ген дрозофил *Dras1* имеет нуклеотидную последовательность, которая мало изменчива у различных таксонов от дрожжей до млекопитающих. Продукт этого гена – белок – важный участник ферментативной реакции, участвующей в делении, который передает сигнал от рецепторов к фосфотрансферазам. Синтез данного белка осуществляется в течение всей жизни у эукариот, а степень экспрессии зависит от регулирующих механизмов. Ошибки в последовательности таких генов при делении клетки, приводят к канцерогенезу.

Нами была проанализирована экспрессионная активность гена *Dras1* на модельных объектах *Drosophila melanogaster* и *D. virilis*, для которых были известны данные полногеномного анализа, которые не дают представлений об особенностях регуляции. Показано увеличение экспрессионной активности гена *Dras1* в личинках стадии L3 и извлеченных из них имагинальных глазных дисках по сравнению со взрослыми особями. Количественный анализ проведен с помощью цифровой ПЦР.

Одними из регуляторов экспрессии генов являются микроРНК, сайты связывания с которыми в 3'-нетранслируемой области были обнаружены для гена *Dras1* с помощью биоинформационного анализа. В дальнейшем были получены три линии дрозофил с гиперэкспрессией нескольких разновидностей микроРНК (miR-312, miR-313 и miR-92a), из которых были выделены имагинальные глазные диски на личиночной стадии L3. Для подтверждения связывания микроРНК с мРНК мы использовали репортерный ген флюоресцирующего белка GFP под промотором Gal4. На конфокальном микроскопе была показана различная степень свечения у контрольной линии по сравнению с экспериментальными, несущими сайты связывания с микроРНК. Белковый анализ проводился методом вестерн-блот с использованием антител для флюоресцирующего белка GFP. Показано, что экспрессионная активность гена *Dras1* различается в зависимости от стадии развития и регулируется с помощью микроРНК.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол_а.

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ХЛОРОПЛАСТНОГО МЕЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА psbA-trnH У
ВОСТОЧНОЕВРОПЕЙСКИХ МАНЖЕТОК (*ALCHEMILLA*, FRAGARIACEAE,
ROSACEAE)**

В. С. Симонова, А. В. Чкалов, А. Д. Перенков, В. В. Новиков

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
viktorysimonova@yandex.ru

Исследование нуклеотидных последовательностей дает основу для принятия объективных решений касательно систематической принадлежности образцов растительных организмов и позволяет проводить обработку сложных для систематики групп растений. Хлоропластный межгенный спейсер psbA-trnH рассматривается как одна из перспективных последовательностей для баркодирования ДНК. Представители рода *Alchemilla* (манжетка) являются ценным лекарственным сырьем, поэтому точность их идентификации и понимание различий в фармакологических свойствах видов крайне актуальны. Целью данной работы является предварительная сравнительная характеристика структуры межгенного спейсера psbA-trnH пластидной ДНК видов рода *Alchemilla*.

ДНК экстрагировали из гербарных образцов, используя протокол выделения, разработанный *Amani et al.* (2011). Участок psbA-trnH амплифицировали с помощью ПЦР в один раунд по стандартной методике, после чего продукты детектировали и очищали на основе электрофореза в 2% агарозном геле. Секвенирование проводили с использованием секвенатора ABI Prizm 3130 Genetic Analyzer (США). Биоинформатический анализ полученных нуклеотидных последовательностей межгенного спейсера psbA-trnH проводили с использованием программы MEGA 11.

Были получены последовательности для 10 видов рода *Alchemilla*. Их длина составила от 182 п.н. (*A. atrifolia*) до 324 п.н. (*A. hirsuticaulis*), в среднем 234,8 п.н. По результатам выравнивания были выявлены 3 основных типа структуры участка: А (у *A. nemoralis*, а также паралог гена, выявленный у *A. atrifolia*), В (у *A. hirsuticaulis*, *A. propinqua*), С (у *A. micans* и остальных пяти видов). По результатам оценки различий между последовательностями (maximum composite likelihood=quasi-maximum likelihood estimate (QMLE) метод) установлено, что внутри групп А и В межвидовые различия отсутствуют, у видов группы С они составляют 0–0,0055. Между группами А и В они оцениваются в 0,46–0,52, между видами групп А и С – 0,53–0,65. Различия между группами В и С оцениваются в 0,093–0,109.

При построении филогенетических деревьев на основе последовательностей, полученных нами и загруженных из базы данных GenBank, было установлено, что виды группы А сближаются с *Potentilla multifida*, *Rubus odoratus*, *R. allegheniensis*, *R. idaeus*; а групп В и С – с родами *Cliffortia*, *Dasiphora*, *Agrimonia*, *Rosa*, *Ivesia*, *Horkelia*, видами *Rubus* (*R. crataegifolius*, *R. pungens*, *R. chingii*, *R. reflexus*), европейскими видами *Fragaria*, *Comarum palustre*, *Potentilla nivea*. Африканские виды манжеток оказываются внешней группой по отношению ко всем вышеперечисленным. Ряд представителей родов *Sibbaldianthe*, *Drymocallis*, *Rubus*, *Fragaria*, *Comarum* формируют независимые от указанных выше кластеры. Данное обстоятельство свидетельствует о том, что для оценки роли межродовой гибридизации, горизонтального переноса генов и эволюции паралогов в формировании подобной картины, существует необходимость углубленного анализа спейсера psbA-trnH с привлечением обширного материала как в плане таксономии (большого числа видов рода *Alchemilla*, а также близких родов *Lachemilla*, *Aphanes*), так и в отношении географии.

БИЛИРУБИН КАК МОЩНЫЙ АНТИОКСИДАНТ И ЦИТОПРОТЕКТОР

С. Д. Синюшкина, А. В. Перешейн

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *ss.snowflake@yandex.ru*

Свободнорадикальные реакции находятся под контролем антиоксидантной системы (АОС), включающей ферментные и неферментные механизмы. Неферментный компонент АОС – низкомолекулярные вещества, выполняющие роль «ловушек» свободных радикалов (СР). Целью нашей работы стало изучение современных представлений о билирубине, который долгое время считался лишь «биологическим отходом», как мощным антиоксиданте и цитопротекторе.

Метод исследования – критический анализ данных литературы с обобщением имеющихся в настоящее время результатов оригинальных исследований и данных теоретических обзоров по данной теме с использованием базы данных PubMed.

Билирубин является конечным продуктом распада гема, который представляет собой простетическую группу многочисленных гемопротеинов, участвующих в метаболизме. Превращение гема в билирубин включает две ферментативные стадии: открытие гемового кольца гемоксигеназой (НО) с образованием биливердина и восстановление его добилирубина с помощью биливердинредуктазы (BVR).

Гемоксигеназа представлена двумя изоформами. НО-1 является индуцибельным ферментом, синтез которого значительно повышается под влиянием активных форм кислорода. Таким образом, при оксидативном стрессе наблюдается экспрессия факторов защиты: НО-1 и билирубина. НО-2 – конститутивная изоформа, локализуемая прежде всего в головном мозге. Экспериментально доказано, что при делеции, сопровождающейся утратой гена, кодирующего данный фермент, значительно возрастает вероятность нейротоксических повреждений, развития судорог и инсультов.

Под действием активных форм кислорода (преимущественно супероксид-аниона и пероксильных радикалов) билирубин, действуя как антиоксидант, окисляется до биливердина. Обратная реакция протекает при участии BVR. Экспериментально было выявлено, что подавление активности данного фермента значительно снижает цитопротекторные эффекты билирубина и способствует увеличению уровня СР и гибели клеток. Значительное усиление активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) из-за недостаточности BVR демонстрирует значимость билирубина как компонента АОС.

Высокая функциональная активность BVR поддерживает эффективный баланс данного антиоксидантного механизма. Это позволяет небольшой концентрации билирубина защитить от 10 000 - кратно превосходящей концентрации перекиси водорода. Даже наномолярные концентрации билирубина могут обезопасить нейроны головного мозга от токсического воздействия высоких концентраций окислителей.

Билирубин является липофильным перехватчиком СР и способствует защите, прежде всего, компонентов клеточных мембран от ПОЛ. При исследовании взаимосвязи между липидным профилем крови, содержанием билирубина и антиоксидантным статусом выявляется сильная положительная корреляция. Отмечается развитие физиологической гипербилирубинемии как защитного механизма при интенсификации ПОЛ.

При состояниях, сопровождающихся повышением содержания непрямого билирубина в крови, отмечена обратная корреляция с заболеваемостью ишемической болезнью сердца, ожирением, сахарным диабетом 2 типа, а также содержанием липидов в крови. И наоборот – низкие концентрации билирубина связывают с увеличением частоты развития сердечно-сосудистых заболеваний, метаболического синдрома, неврологических нарушений.

Представленные данные подтверждают идею о том, что в клетках организма человека выработана регуляция гемоксигеназного / биливердинредуктазного пути, способствующего образованию билирубина и противодействию оксидативному стрессу.

ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ В МОДЕЛИ МИОФАСЦИАЛЬНЫХ ТРИГГЕРНЫХ ТОЧЕК

Н. В. Сметанина¹, П. В. Пчелин^{1,2}, Т. М. Григорьева¹, Д. Н. Шкарупа¹, Р. Д. Лапшин², Н. А. Щелчкова^{1,2}, А. П. Баврина²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nadezhda.smetanina.00@mail.ru

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

Миофасциальный болевой синдром является ведущей причиной мышечно-скелетной боли в мире и характеризуется наличием триггерных точек. Для усовершенствования терапии данной патологии в будущем требуется понимание клеточных механизмов, вовлеченных в ее этиологию. В связи с нарушением кровоснабжения триггерных точек и образованием локальных гипоксических зон, изучение митохондриальных нарушений, сопутствующих развитию патологии, является актуальным.

Цель исследования – охарактеризовать изменения функциональной активности митохондриального аппарата скелетных мышц в модели миофасциальных триггерных точек.

Объект исследования: латеральная широкая мышца бедра самцов крыс линии Wistar (возраст – 3 месяца, $n=16$). Животные были разделены на 2 группы: интактная и группа с моделированием миофасциального синдрома. Из мышечной ткани крыс получали фракцию митохондрий для одновременной оценки параметров динамики митохондриального мембранного потенциала (мТМП) и дыхательной активности методом респирометрии высокого разрешения (Oxygraph-2k, Oroboros Instruments, Австрия). Полученные данные нормализованы по содержанию белка (метод Бредфорда). Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0.

В сравнении с животными интактной группы, моделирование миофасциальных триггерных точек у крыс приводит к достоверному снижению дыхания в процессе окислительного фосфорилирования при участии комплекса I ЭТЦ на 39%, сопряженному с тенденцией к менее выраженной деполяризации мембраны. При совместном участии комплексов I и II достоверное снижение на 39% сохраняется, в связи с чем, сделан вывод об отсутствии компенсаторной активации комплекса II. Целостность мембраны при этом нарушена незначительно. Отмечены тенденции как к снижению активности комплекса IV, так и общей дыхательной емкости ЭТЦ.

По результатам исследования проведено детальное описание биоэнергетического фенотипа митохондрий при формировании миофасциальных триггерных точек, показаны признаки развития тканевой гипоксии, что в дальнейшем станет основой для лучшего понимания особенностей развития данной патологии.

Исследование проводится в рамках выполнения Государственного задания № 056-03-2022-087, утвержденного Министерством здравоохранения Российской Федерации 18.01.2022 г.

ГНЕЗДОВОЕ НАСЕЛЕНИЕ ПТИЦ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «ГНИЛИЦКИЕ ДАЧИ» (НИЖНИЙ НОВГОРОД)

М. С. Соколова, Н. Е. Колесова, О. С. Носкова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
qwersokolowa@yandex.ru

С развитием промышленности, ростом городов актуальными становятся исследования орнитокомплексов в условиях урболандшафта. Влияние антропогенной нагрузки обычно изучается на примере сообществ птиц лесопарков или зон застройки. Исследований птиц открытых пространств внутри городов и в их окрестностях крайне мало. Они часто проводятся не комплексно и направлены на изучение конкретного вида или систематической группы. Это делает актуальным мониторинг сообществ птиц пригородных территорий, быстро реагирующих на любые преобразования. Особого внимания заслуживают особо охраняемые природные территории, примыкающие к городам.

На территории памятника природы (ПП) регионального значения «Гнилицкие дачи» в гнездовой период 1.06–15.07.2021 проведены учеты птиц на постоянном маршруте с 3-кратной повторностью. ПП расположен на юго-западе Нижнего Новгорода в междуречье Оки и Гнилички (приток Оки). Территория представлена заливными лугами и дубравами. Птиц учитывали с использованием нефиксированных полос учета. Для расчета обилия летящих особей вносили поправку на скорость перемещения. Всего маршрутами пройдено около 15 км. Проведено сравнение ряда показателей с таковыми, полученными по орнитокомплексам «Артемовских лугов» Волжской поймы, обследованных в 2020 г., и мозаичных лугов-перелесков Нижегородского международного аэропорта, расположенного за поймой Оки, вблизи ПП, обследованных в 2018 г.

В ходе учетов было обнаружено 64 вида птиц, 27 семейств, 10 отрядов, составляющих 21% от числа видов области. Тогда как в гнездовом населении птиц мозаичных лугов-перелесков аэропорта и в «Артемовских лугах» было отмечено около 80 видов. К фоновым относятся 52 вида. Преобладают виды европейского типа фауны – 30 видов (62% по обилию). Транспалеаркты составляют 26 видов (29%), еще 8 видов (8%) имеют сибирский, голарктический, китайский тип ареала и неясного происхождения. Из редких были отмечены 10 видов.

Суммарное обилие составило 1205 особей/км², что близко к показателям орнитокомплекса лугов-перелесков аэропорта, но в 2 раза меньше, чем в «Артемовских лугах». Видовое разнообразие (индекс Шеннона) орнитокомплекса составило 3,26 ед., выровненность (индекс Пиелу) – 0,78 ед. Птицы ПП представляют несколько экологических групп: лесо-опушечные (54% по обилию), виды открытых сухих (19%) и увлажненных (6%) местообитаний, лесные (11%), околородные (6%). Среди них выделены также виды-синантропы (4%) и дневные хищники (0,3%). Лидируют в населении птиц большая синица *Parus major* (17%), весничка *Phylloscopus trochilus* (11%). Они же входили в пятерку лидеров в орнитокомплексе лугов-перелесков аэропорта. Также среди первых пяти лидеров в ПП можно выделить деревенскую ласточку *Hirundo rustica* (8%), лесного конька *Anthus trivialis* (5%) и зяблика *Fringilla coelebs* (4%). В «Артемовских лугах» состав лидеров полностью отличается.

Суммарная биомасса птиц в ПП составила 59 кг/км². По биомассе лидируют кряква *Anas platyrhynchos* (20%), рябинник *Turdus pilaris* (8%), озерная чайка *Larus ridibundus* и большая синица (по 7%), серая ворона *Corvus cornix* (6%). Удовлетворение энергетических затрат птицами происходит в основном за счет беспозвоночных – 87% по обилию. При кормлении птицы распределены по ярусам неравномерно: наземно-кормящиеся – 33% по обилию, кормящиеся в кустарниках и высокотравье – 26%, кронники – 24%. Остальные виды, питающиеся в воздухе, воде и на стволах деревьев, составили в целом 17%.

**ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ СИНГЕНОВ ИНFUЗОРИЙ
PARAMECIUM BURSARIA: НОВЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И
МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ
Д. Д. Соколовский¹, М. С. Мелехин^{1,2}, А. А. Помехин¹**

¹Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург,
Университетская набережная, 7–9; sokolovskiy.daniil@gmail.com

²Лаборатория клеточной и молекулярной протистологии, ЗИН РАН,
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 1

Инфузории, представители рода *Paramecium* - популярный модельный объект для целого ряда биологических исследований. «Зеленая» парамеция *P. bursaria* вступает в симбиотические отношения с одноклеточными зелеными водорослями. Этот морфологический вид включает в себя шесть сингенов (репродуктивно изолированных групп). Несмотря на то, что *P. bursaria* является видом-космополитом и обнаруживается практически повсеместно, сингены этого вида зачастую демонстрируют строгую приуроченность к определенным географическим регионам. Так, сингены R1 и R2 считаются евразийскими, R3 обнаруживается в азиатском регионе, а также в Южной и Центральной Америке. Синген R4 найден только в США. Эпизодические находки сингена R5 не дают возможности судить о географии его распространения. Клоны, идентифицированные нами как синген R6, были обнаружены исключительно в пробах из различных водоемов в Египте. Лишь в отдельных случаях представители тех или иных сингенов обнаруживались в нетипичных для них регионах. Так, представителей сингена R3 несколько раз находили в ботанических садах Европы, куда они могли быть занесены вместе с растениями. Современные представления о географическом распределении протистов основываются на двух противоречивых концепциях. Согласно модели «все есть везде», предложенной Д. Финли, большинство протистов распространено повсеместно. Противоположную точку зрения изложил В. Фойсснер: большая часть разнообразия протистов представляет собой эндемичные таксоны. Для *P. bursaria*, вероятнее, применима концепция Фойсснера, о чем говорят строгие границы географического распределения некоторых сингенов этого вида. Возможно, что важную роль в становлении границ распространения *Paramecium* играет эволюционный возраст. Чем раньше возник вид, тем вероятнее он будет иметь более широкое распространение. Так *P. chlorelligerum*, являющийся наиболее молодым видом, обнаруживался всего несколько раз в Европе, а *P. bursaria*, один из наиболее древних видов *Paramecium*, является космополитом, при этом распространение отдельных сингенов *P. bursaria* географически детерминировано.

Мы провели морфологический и молекулярно-филогенетический анализ представителей всех шести сингенов *P. bursaria*. В работе использовали десятки клонов *P. bursaria* из коллекции ресурсного центра «Культивирование микроорганизмов», СПбГУ. Морфометрический анализ клеток проводили на тотальных препаратах, окрашенных по методу Фельгена. Учитывали как размеры клеток, так и характеристики их ядерного аппарата. Для исследуемых клонов были также проведены прижизненные наблюдения с учетом важных морфологических особенностей клеток. Филогенетический анализ последовательностей маркерного гена COI для 32 клонов *P. bursaria* подтвердил наличие внутри морфологического вида *P. bursaria* 6 групп. Генетическое расстояние между этими группами, а также результаты скрещиваний позволяют придать им статус отдельных генетических видов. При этом филогенетическая структура морфологического вида отражает и биогеографическое распространение представителей отдельных групп.

Таким образом, нами было подтверждено наличие внутри вида *P. bursaria* комплекса из шести сингенов, а данные о географическом происхождении различных клонов *P. bursaria* позволили нам определить границы распространения для каждого из сингенов и предложить модель распространения представителей *P. bursaria* в частности и разных видов *Paramecium* в целом.

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ УЖОВЫХ ЗМЕЙ

Е. И. Соломайкин¹, Е. Б. Романова¹, А. Г. Бакиев², Р. А. Горелов²

¹Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
e7v4gen5iy@yandex.ru

²Самарский научный центр Институт экологии Волжского бассейна РАН, 445003, Тольятти,
ул. Комзина, 10/1

Адаптивные реакции – это способ приспособления организма к постоянно изменяющимся условиям среды, поскольку устойчивость живых организмов во многом связана с их лабильностью. Лейкоцитарный профиль крови (соотношение форменных элементов) как надежный «инструмент», отражающий направленность и выраженность адаптивных реакций, успешно применяется в клинической и ветеринарной практике, а в последнее время нашел использование и в экологических исследованиях. Актуальность таких исследований заключается в выявлении специфики иммунного реагирования широко распространенных видов, обитающих в разных географических и биотопических условиях, когда темпы антропогенных и климатических изменений требуют постоянной мобилизации адаптационных резервов организма.

Цель работы – сравнительный анализ направленности адаптивных реакций трех видов ужовых змей (Colubridae), оцениваемых по показателям лейкоцитарного профиля крови особей. Это – узорчатый полоз *Elaphe dione*, 28 особей: 8 самок, 10 самцов охраняемой территории заповедника «Оренбургский»; водяной уж *Natrix tessellata*, 145 особей: 87 самок, 58 самцов; обыкновенный уж *N. natrix*, 89 особей: 70 самок, 19 самцов из популяций Мордовского заповедника, Северного и Восточного Прикаспия.

В крови самок и самцов узорчатого полоза выявили различия по количественному содержанию всех форм гранулоцитов и моноцитов, что свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и идентичности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме животных в особо охраняемых условиях среды обитания. В рамках пространственной модели на примере широко распространенного вида – ужа обыкновенного – выявлены различия лейкоцитарного профиля крови особей из разных местообитаний. Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля самок данного вида из степной зоны Северного Прикаспия и широколиственных лесов Мордовского заповедника выявил значимые различия по большинству показателей. Адаптация к конкретным условиям биотопа на уровне системы крови обыкновенного ужа более выражено проявлялась в перестройке баланса мононуклеарных клеток: азурофилов и моноцитов. Отмечено изменение соотношения гранулоцитарных лейкоцитов: гетерофилов и базофилов. Сравнительный анализ лимфоцитарно-гранулоцитарного состава крови водяного ужа из разных популяций выявил повышение индекса соотношения гетерофилов к лимфоцитам и гетерофилов к эозинофилам у самцов и у самок Восточного Прикаспия по сравнению с особями Северного Прикаспия. В иммунологических показателях крови особей, обитающих в пустынной зоне Восточного Прикаспия, преобладала неспецифическая защитная составляющая. Напротив, усредненная лейкограмма особей из полупустынной зоны Северного Прикаспия имела ярко выраженный лимфоцитарный профиль, что свидетельствовало о возрастании специфической реактивности организма.

АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ОТВЕТА КЛЕТОК ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА A431 ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ БЕТА-ИЗЛУЧЕНИЕМ И ПОТОКОМ ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕКТРОНОВ

С. С. Сороко, Д. С. Молодцова, И. В. Балалаева, А. А. Брилкина, В. А. Воденев, Н. Ю. Шилягина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kastarashan@gmail.com

В настоящее время помимо стандартной лучевой терапии с применением электромагнитного ионизирующего излучения большую популярность набирают радионуклидные методы онкотерапии. Таргетные радиофармпрепараты, в чей состав преимущественно входят бета-излучающие радионуклиды, позволяют обеспечить избирательное действие и снижение общей радиационной нагрузки, однако, механизм действия электронов высоких энергий на опухолевые клетки до конца не изучен.

Целью исследования был анализ механизмов ответа клеток эпидермоидной карциномы человека A431 на воздействие высокоэнергичных электронов в режиме низко- и высокоинтенсивного ионизирующего излучения.

Для моделирования высокоинтенсивного режима облучения использовали линейный ускоритель Novalis Tx. Дозу контролировали временем облучения. При моделировании низкоинтенсивного режима облучения использовали бета-эмиссионные закрытые препараты Sr-Y-90. Дозу контролировали временем и мощностью источника. Оценку жизнеспособности клеток проводили через 24 и 72 часа после облучения методом МТТ-теста.

Мониторинг продукции пероксида водорода в клетках осуществляли с помощью зонда H₂DCF-DA (Sigma, США). Исследование проводили методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии на установке Axio Observer Z1 LSM-710 DUO NLO (Carl Zeiss, Германия).

Оценку соотношения фаз G₀/G₁; S; G₂/M клеточного цикла и анализ механизмов клеточной гибели через различные временные точки и дозы воздействия проводили методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре CytoFLEX S. Пробоподготовку при анализе проводили согласно протоколу производителя коммерческого набора «Cycletest™ Plus DNA Reagent Kit» и «Dead Cell Apoptosis Kit with Annexin V FITC and PI» (BD Cycletest™ Plus, США).

Нами было показано, что процент жизнеспособных клеток A431 при оценке через 72 часа после облучения в несколько раз ниже, чем через 24 часа. Выявлены более низкие значения LD₅₀ для клеток A431 при действии электронов высоких энергий, по сравнению с действием низкоинтенсивного бета-излучения.

Показано, что ответ клеток A431 на высокоинтенсивное радиационное воздействие проявляется в увеличении концентрации внутриклеточного пероксида водорода в клетках в 4 раза по сравнению с контролем. Зарегистрировано увеличение количества клеток, находящихся в фазе G₂/M, т.е. претерпевающих радиационный блок митозов, после высокоинтенсивного облучения. В случае низкоинтенсивного бета-излучения подобной закономерности выявлено не было. Через 72 часа после воздействия электронов высоких энергий зарегистрировано дозозависимое увеличение числа мёртвых клеток, погибших в процессе одного из первых четырёх пострадиационных митозов и увеличение количества «гигантских клеток», утративших пролиферативную активность. Через 24 и 48 часов после воздействия количество мёртвых клеток было заметно ниже.

Полученные результаты в будущем призваны стать основой для понимания механизмов действия бета-излучения на клетки для решения задач таргетной противоопухолевой радиотерапии.

Работа выполнена в рамках Госзадания Минобрнауки России № 0729-2020-0061

СОСТАВ И РАЗВИТИЕ ФИТОПЛАНКТОНА ОЗЕРА ВАД (НИЖЕГОРОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

А. С. Соснина, Е. Л. Воденеева

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
a.sosnina25@gmail.com

Озеро Вад является памятником природы регионального значения, расположенным в Вадском районе Нижегородской области. Своим происхождением озеро обязано карстовым процессам в толще пермских гипсов. Уникальность озера в первую очередь заключается в наличии карстовой воронки – «воклины» с пещерой. Озеро имеет своеобразный гидрологический режим. Предполагается, что Вад связан с другими природными водоемами района подземными туннелями и образует с ними единую гидрологическую систему.

Цель работы заключается в оценке экологического состояния озера Вад по фитопланктону. На данный момент фитопланктон большей части озер карстового происхождения все еще не изучен. Благодаря специфическому гидрологическому режиму подобные озера имеют уникальную структуру сообществ гидробионтов. Материалом для работы послужили пробы фитопланктона, отобранные в летний период 2021 г. Пробы фитопланктона отбирались батиметрическим способом в пелагиали водоема.

Озеро Вад – характеризуется мелководностью и высокой прозрачностью. В среднем, прозрачность составляла 1,3 метров, что соответствует средней глубине водоема. Наиболее высокие значения прозрачности (около 8 м) отмечались на глубоководной станции, в которой находится «воклина». По данным гидрохимического анализа в период исследования озеро Вад можно охарактеризовать как сульфатно-кальциевый водоем (концентрация ионов кальция составила 130 мг/л; сульфатов 680 мг/л), что может быть связано с растворением карстовых пород (известняк, гипс). Содержание аммония (0,16 мг/л) свидетельствовало об умеренной загрязненности воды азотом. Также отмечалось повышенное содержание меди (0,010 мг/л). Концентрации остальных веществ не превышали ПДК и оставались в референсных значениях. Величина активной реакции среды в среднем составляла 6,9 единиц, что соответствует нейтральным водам.

В северной части озера численность фитопланктона составляла 3,631 млн. клеток/л, биомасса – 4,528 г/м³. В численном отношении преобладали диатомовые (44,95%), зеленые (24,46%) водоросли и цианобактерии (29,28%). Из этих групп в сложении биомассы наиболее заметной оказалась роль Bacillariophyta (более 80%), доля зеленых водорослей составила 11%, цианобактерий – менее 1%. В группе доминирующих по биомассе видов отмечались *Navicula radiosa*, *Fragilaria* spp., *Pinnularia* spp. (диатомовые), *Ulothrix zonata* (зеленые).

В восточной части озера численность фитопланктона составляла 5,840 млн. клеток/л, биомасса 24,059 г/м³. Доминантами в численном отношении также выступали диатомовые (89,38%) и зеленые (10,45%) водоросли, тогда как по биомассе основными компонентами альгоценозов были представители Bacillariophyta (почти 99%). Состав доминирующих форм отличался. В этой части водоема отмечалось массовое развитие представителей рода *Ulnaria* (*U. capitata* и *U. ulna*), биомасса этих видов достигала 2,923–12,015 г/м³.

В целом степень развития водорослей в озере Вад варьировала от мезотрофного до высоко эвтрофного уровня. Основными компонентами альгоценозов выступали пеннатные диатомовые водоросли.

СОДЕРЖАНИЕ КАЛИЯ В КИПРЕЕ УЗКОЛИСТНОМ НА ТЕРРИТОРИИ МАРИЙ ЭЛ

Х. С. Сперанская, О. Л. Воскресенская

Марийский государственный университет, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 1;

xristintin20@gmail.com

Кипрей узколистый (*Epilobium angustifolium*), или Иван-чай, – многолетнее травянистое растение семейства кипрейные (Onagraceae). Надземные (листья, цветки) и подземные (корневища) части растения используются в области чайного производства и в медицине. Цветение происходит с июля до сентября, плодоношение – с августа до октября. Иван-чай распространен на большой территории северного полушария.

Одним из наиболее значимых в жизни растений элементом является калий. Он способствует синтезу белков и сахаров, передвижению и накоплению углеводов в репродуктивных частях растений, нормализует процесс фотосинтеза, увеличивает осмотическое давление клеточного сока. Установлено, что он стимулирует нормальное течение фотосинтеза, усиливает отток углеводов из пластинки листа в другие органы. Немаловажную роль калий играет в устойчивости растений. Способствуя накоплению углеводов в клетках растений, калий увеличивает осмотическое давление клеточного сока и тем самым повышает холодоустойчивость и морозостойкость растений. Целью работы была количественная оценка содержания калия в кипрее узколистом, произрастающем в Республике Марий Эл.

Материал для исследования был отобран в летний период 2019 г. в Сернурском, Медведевском и Моркинском районах РМЭ. Исследование на содержание калия проводилось в лаборатории ОАО «Марбиофарм» на атомно-абсорбционном спектрометре PinAAcle 500 PERKIN-ELMER с применением ртуть-гидридной системы MHS 15. Полученные результаты обрабатывались с помощью программы Statistica 6.0. Для комплексной оценки полученных результатов использовали двухфакторный дисперсионный анализ. Достоверность различий принималась на 5% уровне значимости.

Как показали результаты исследований, содержание калия в листьях кипрея узколистного в разных районах республики Марий Эл колебалось от 193,8 до 284,3 мкг/г. Наименьшее содержание было обнаружено в листьях кипрея узколистного, произрастающего в Сернурском районе. У растений, произрастающих в Медведевском районе, количество калия была несколько выше (229,9 мкг/г). В листьях кипрея узколистного, произрастающего в Моркинском районе, содержание калия было выше в 1,3 – 1,5 раза и составило 284,3 мкг/г. Дисперсионный анализ показал статистическую значимость различий по содержанию калия в листьях кипрея узколистного во всех изученных районах.

СЕТЕВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

С. В. Стасенко

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
stasenko@neuro.nnov.ru

Включение астроцитов в классическую схему «пресинапс-постсинапс» привело к формированию концепции тройственного синапса (Araque et al., 1999; P. G. Haydon, 2001) (Araque et al., 1999; P. Haydon, 2001), основанную на том, что глиальные клетки (астроциты) через кальций-зависимое высвобождение глиатрансмиттера (глутамата) способны воздействовать на пре- и постсинаптические компартменты синапса. При генерации спайков на пресинаптическом нейроне происходит высвобождение нейротрансмиттера (к примеру, глутамата) из пресинаптической терминали. Часть нейротрансмиттера может диффундировать вне синаптической щели и связываться на метаботропных глутаматных рецепторах (mGluRs) астроцита, который может быть расположен вблизи пресинаптической терминали. Активация метаботропных глутаматных рецепторов G-опосредованно приводит к образованию инозитол-1,4,5-трифосфата (ИТФ). ИТФ диффундирует внутри клетки и связывается на ИТФзависимых рецепторах эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и приводит к высвобождению Ca^{2+} в цитоплазму. Увеличение свободного кальция в астроците может приводить к высвобождению глиатрансмиттеров (к примеру, глутамата, аденозинтрифосфата (АТФ), D-серина, ГАМК) в синаптическую щель и во внесинаптическое пространство и последующему модуляционному воздействию на синаптическую передачу при связывании на пре- или постсинаптических рецепторах (Perea, Navarrete and Araque, 2009).

В данной работе предлагается модель регуляции сетевой нейрональной активности глиальными клетками – астроцитами. Модель нейрона описывается уравнениями Ходжкина-Хаксли (Hodgkin and Huxley, 1952). Нейрон-глиальное взаимодействие описывается феноменологическим подходом, предложенным в работе (Gordleeva et al., 2012; Lazarevich et al., 2017). Нейронная сеть состоит из 900 нейронов, 80% из которых – возбуждающие нейроны, 20% – тормозные нейроны. Вероятность связи возбуждающих нейронов – 5%, вероятность связи тормозных нейронов – 10%. На каждый нейрон подается внешний шум, имеющий равномерное распределение от 0 до 1. На нейронную сеть в течение 100 мс подается изображение, пиксели которого преобразуются в ток от 0 до 1, в пространственной развертке на слой возбуждающих и тормозных нейронов. Было получено, что при одновременной подаче шума и полезного сигнала в виде изображения на слой нейронов, происходит случайная активация нейронов и размытие изображения на растровой диаграмме нейронной активности. Активация астроцитов приводит к уменьшению зашумления нейронов и улучшению изображения на растровой диаграмме. Таким образом, было показано, что астроциты осуществляют функцию фильтрации полезного сигнала, что является важным для восприятия внешнего сигнала рецептивным полем.

АНАЛИЗ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ БОЛОТНОЙ ЧЕРЕПАХИ (*EMYS ORBICULARIS*) ИЗ ЗАПОВЕДНИКА «ОРЕНБУРГСКИЙ» И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ *И. А. Столярова¹, Е. Б. Романова¹, А. Г. Бакиев², Р. А. Горелов²*

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
irinaisto75@gmail.com

²Самарский научный центр Институт экологии Волжского бассейна РАН, 445003, Тольятти,
ул. Комзина, 10/1

В биомониторинге качества среды и состояния живых организмов особое место отводится иммуногематологическому подходу, позволяющему выявить эколого-физиологические особенности устойчивости популяций в динамических условиях среды обитания. Цель работы – сравнительная оценка лейкоцитарного состава крови болотной черепахи *Emys orbicularis* из Государственного природного заповедника федерального значения «Оренбургский» и прилегающих к нему территорий и акваторий.

Объектами исследования были особи болотной черепахи, добытые в ГПЗ «Оренбургский» (Оренбургская обл., Кувандыкский р-н, заповедный участок «Айтуарская степь», 13–16.06.2021: 15 особей, в т. ч.: 7 самок, 4 самца и 4 ювенильных особи) и его окрестностей (Оренбургская обл., Беляевский р-н, окр. заповедного участка «Буртинская степь»; 16–17.06.2020: 16 особей, в т. ч.: 11 самок и 5 самцов). Кровь брали путем прокола хвостовой вены. После взятия крови все особи были возвращены в места отлова. Дифференцированный подсчет клеток крови производили под микроскопом при увеличении $\times 1500$ с иммерсионной системой. В крови черепах проводили подсчет гранулоцитов: гетерофилов, эозинофилов, базофилов; агранулоцитов: моноцитов, лимфоцитов. На основании подсчета лейкоцитарной формулы крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы для каждой особи.

Многофакторный многомерный дисперсионный анализ выявил значимое влияние на лейкоцитарные формулы болотных черепах таких факторов, как пол ($\lambda Wilks = 0,791$, $p = 0,014$), биотоп ($\lambda Wilks = 0,510$, $p < 0,001$), наличие гемопаразитов в эритроцитах ($\lambda Wilks = 0,823$, $p = 0,044$) и их взаимодействия ($\lambda Wilks < 0,001$, $p < 0,001$). Выявлены значимые различия в ряде интегральных показателей молодых черепах по сравнению с аналогичными показателями взрослых особей. Так, в периферической крови самок выявлено более высокое содержание эозинофилов ($D_{2-3} = 3,365$, $p = 0,001$), пониженное содержание гетерофилов ($D_{2-3} = 2,633$, $p = 0,013$), низкий показатель соотношения лимфоцитов/эозинофилов ($D_{2-3} = 3,386$, $p = 0,002$) и гетерофилов/эозинофилов, ($D_{2-3} = 3,924$, $p < 0,001$) по сравнению с неполовозрелыми особями. Самцы отличались от молодых особей более низким показателем соотношения гетерофилов/эозинофилов, ($D_{1-3} = 2,330$, $p = 0,027$).

При проведении множественных сравнений здоровых и половозрелых особей болотных черепах, в эритроцитах которых был найден гемопаразит *Haemogregarina* sp., выявлена более высокая доля гетерофилов ($z = 2,592$, $p = 0,005$), эозинофилов ($z = 1,984$, $p = 0,024$), моноцитов ($z = 3,563$, $p < 0,001$) и пониженная доля базофилов ($z = 2,935$, $p = 0,002$) и лимфоцитов ($z = 2,956$, $p = 0,002$) в периферической крови зараженных самок.

Картина крови и динамика лейкоцитарных индексов крови отражали активный отклик организма на комплекс экологических факторов среды с наиболее выраженной активацией иммунных процессов у неполовозрелых особей по сравнению с самцами и самками болотных черепах.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ КАК ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КВЧ-ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПРОСТАТИТЕ У КРЫС

О. А. Сухаревская, С. В. Копылова, З. А. Хусиянова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *Oc097@mail.ru*

В настоящее время, недостаточно изученным является вклад тромбоцитов в каскад воспалительных реакций. Целью работы являлось изучение изменения уровня АТФ и электрофоретической подвижности тромбоцитов (ЭФПт), при КВЧ-терапии хронического простатита у крыс.

Исследования проводились на 60 самцах крыс линии Wistar. Животные в эксперименте были разделены на 3 группы: интактные - животные, к которым не применялось воздействие; контрольные - животные, которым моделировали хронический воспалительный процесс простаты; опытные - животные, которым моделировали хронический простатит, а затем проводили КВЧ-терапию.

В работе в качестве физиотерапевтического воздействия была использована КВЧ-терапия на аппарате КВЧ-ИК терапии "СЕМ ТЕСН". Забор крови производился через 5, 10, 15, 25 суток после начала эксперимента, путем декапитации.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что физиологическая модель простатита у крыс вызывает снижение ЭФПт и концентрации АТФ в гранулах тромбоцитов. Вероятно, при воспалении происходило изменение функциональной активности тромбоцитов, формы, конформации белков на поверхности и внутри клеток. После физиотерапевтического воздействия на аппарате КВЧ-ИК терапии «СЕМ ТЕСН» показатели были сопоставимы с таковыми в группе «интактные животные». Таким образом, можно предположить, что моно-лечение коротковолновым излучением способствовало восстановлению нарушенных параметров системы гемостаза и могло бы существенно дополнить стандартную терапию данного вида патологии. Следует отметить, что показанный эффект лечения сохранялся и спустя 10 дней после КВЧ-терапии.

АНАЛИЗ РОЛИ ПЛОТНОСТИ УСТЬИЦ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НЕОДНОРОДНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ОТВЕТА ЛИСТА НА ДЕЙСТВИЕ СВЕТА МЕТОДОМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Е. М. Сухова, Д. А. Ратницына, В. С. Сухов

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
n.catherine@inbox.ru

Растения ведут прикрепленный образ жизни, и по этой причине очень чувствительны к воздействию различных факторов. Ключевым метаболическим процессом у растений является фотосинтез. Снижение активности фотосинтеза, вызванное действием неблагоприятных факторов, может значительно отразиться на росте и развитии растений. При этом интересно, что ответ фотосинтеза на действие стрессора может развиваться неоднородно, в частности в пределах листа. Такая неоднородность может быть вызвана неоднородным освещением растения или воздействием стрессора, например засухи. Одним из возможных механизмов возникновения неоднородности фотосинтетического ответа является изменение активности устьичного газообмена. В нашей работе мы провели теоретический анализ влияния плотности устьиц и активности газообмена на неоднородность фотосинтетического ответа и сопоставили их с экспериментальными данными.

Нами была разработана двумерная математическая модель листа растения, которая включала описание ассимиляции CO_2 , газообмена и переноса заряженной и нейтральной форм углекислого газа по апопласту и внутри клеток. Кроме того, модель описывала ионный транспорт, а именно: H^+ -АТФазу, K^+ -каналы и K^+/H^+ -антипорт. При этом равновесие между заряженной и нейтральной формами углекислого газа регулировалось значением pH среды. Модель решалась численно методом Эйлера.

В экспериментах использовали 2-3-недельные проростки гороха. Растения выращивали в вегетационной комнате в условиях 16/8 ч. светового режима и температуре $+24^\circ\text{C}$. Интенсивность газообмена и фотосинтеза оценивалась с помощью приборов Imaging-PAM-M и GFS-3000 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Германия).

Наша модель показала хорошее качественное соответствие между теоретическими и экспериментальными данными. Во-первых, как в случае модели, так и эксперимента наблюдалась сильная логарифмическую связь между ассимиляцией и проводимостью устьиц. Следующим результатом было наличие различия активности ассимиляции между центром и краем листа. При этом зависимость такого различия между центром и краем листа от интенсивности освещения имело вид кривой насыщения. Модель показала, что снижение плотности устьиц усиливало разность ассимиляции между центром и краем листа, а также разброс между этими величинами. Полученный результат качественно подтверждался экспериментальными данными. Возможной причиной возникшей неоднородности ассимиляции может быть возникающая при освещении неоднородность содержания углекислого газа в хлоропластах.

Таким образом, разработанная нами модель показала значимое участие плотности устьиц в формировании пространственной неоднородности фотосинтетического ответа в условиях освещения. Результаты наших исследований имеют фундаментальную значимость, так как они показывают возможные механизмы формирования пространственной неоднородности ответа фотосинтеза на действие стрессоров. Кроме того, полученные результаты могут быть использованы для классификации типов стрессоров, действующих на растения, на основании развивающихся изменений.

Исследование было выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-34-90086 Аспиранты.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ ТОМАТОВ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА

А. В. Сухорукова, А. А. Тюрин, И. В. Голденкова-Павлова

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276, Москва,
ул. Ботаническая, 35; *sualsha@yandex.ru*

Исследование регуляторных элементов, модулирующих трансляцию в течение стресса, даст возможность разрабатывать инструменты для более точной и адресной экспрессии целевых генов у растений. 5'-нетранслируемые области являются ключевым регуляторным элементом мРНК и участвуют в механизмах регуляции трансляции эукариотических генов. Структура и основные особенности этого регулятора были уточнены во многих отношениях. В представленной работе мы уделили внимание поиску и анализу регуляторных цис-контекстов 5'-UTR мРНК томата в условиях холодного стресса. Другими словами, нас интересовало, все ли ключи перевода одинаковы, или есть особенности при наложении определенных условий, в нашем случае разных вариантов действия низких температур. Мы проанализировали модуляцию транскрипции и трансляции у растений томата в нескольких вариантах: 1) влияние низких положительных температур (+4°C – закаливание); 2) холодный стресс (0°C); 3) холодный стресс растений после закаливания по сравнению с растениями, выращенными в нормальных условиях. Для всех вариантов дифференциально транскрибируемые гены анализировали путем секвенирования тотального транскриптома, а дифференциально транслируемые гены – путем секвенирования моносомной и полисомной фракций мРНК, полученных при профилировании полисом. В результате анализа полученных наборов данных были выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены, для которых уровень трансляции значительно изменяется под влиянием низких температур. С использованием различных подходов биоинформатики был проанализирован 5'-UTR этих генов и выявлены регуляторные контексты мРНК 5'-UTR, потенциально обеспечивающие трансляционную активность мРНК и функционирование клетки в условиях низких температур.

АНАЛИЗ ЭВОЛЮЦИОННОГО КОНСЕРВАТИЗМА АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКА MBP В МОЗГЕ ПОЗВОНОЧНЫХ

***Е. И. Сысоев*^{1, 2}, *М. Е. Велижанина*^{1, 3}, *А. А. Шенфельд*^{1, 3}, *А. П. Галкин*^{1, 3}**

¹Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург,
Университетская наб., 7–9; *evgeniy_sysoev1@mail.ru*

²Лаборатория биологии амилоидов, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

³Санкт-Петербургский филиал ИОГен РАН, 198504, Санкт-Петербург, ул. Ботаническая, 17

Амилоиды представляют собой белковые фибриллы, для которых характерно наличие упорядоченной кросс- β структуры. Образование амилоидных фибрилл до конца прошлого века рассматривалось исключительно как патологический процесс, однако сейчас всё больший интерес вызывает группа так называемых функциональных амилоидов – белков, которые в норме функционируют в амилоидной форме и регулируют жизненно-важные процессы. Идентификация и исследование данных белков позволяет расширить представления о функциональной значимости амилоидов в природе.

Ранее при помощи разработанного в нашей лаборатории метода протеомного скрининга был выявлен кандидат на роль функционального амилоида в мозге крысы *R. norvegicus*: белок MBP (Myelin Basic Protein). Данный подход основан на универсальном свойстве всех амилоидов – устойчивости к ионным детергентам, таким как SDS. Белок MBP является основным компонентом миелиновой оболочки нервных волокон центральной нервной системы позвоночных, он способствует адгезии и стабилизации мембран, образующих миелин. Ранее мы доказали амилоидные свойства данного белка у крысы *R. norvegicus* с помощью молекулярно-биологических, гистологических и биохимических методов.

В связи с эволюционной консервативностью белка MBP и сходством структурной организации миелиновых оболочек у различных позвоночных животных мы предположили, что амилоидные свойства белка MBP также являются консервативными. Целью данной работы является анализ эволюционного консерватизма амилоидных свойств белка MBP в головном мозге позвоночных. Мы оценили амилоидные свойства этого белка в образцах из мозга лягушки *R. temporaria*, черепахи *T. scripta* и курицы *G. Domesticus*. В качестве позитивного контроля использовались образцы мозга крысы *R. norvegicus*.

Фракционирование гомогенатов мозга, обработанных 1% SDS при комнатной температуре, показало, что у лягушки, как и у крысы, белок MBP присутствует во фракциях олигомеров и агрегатов, в то время как у черепахи *T. scripta* и курицы *G. domesticus* – во фракции олигомеров. Отметим, что устойчивость к обработке SDS является универсальной особенностью амилоидных фибрилл. Иммуногистохимический анализ срезов мозга черепахи и курицы показал колокализацию MBP с амилоидспецифичным красителем Congo Red (CR). Также миелинизированные волокна лягушки, черепахи и курицы окрашиваются амилоидспецифичным красителем Тиофлавином S.

Полученные данные свидетельствуют о том, что, по всей вероятности, белок MBP в норме формирует сеть амилоидных фибрилл в миелиновых оболочках у всех позвоночных животных.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 20-14-00148, а также ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС», «Биобанк» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЕСОВЫХ КОЭФФИЦИЕНТОВ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ И НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРЫС ПРИ КВЧ-ТЕРАПИИ АДРЕНАЛИНОВОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ

Д. А. Тарасова, Ж. А. Сацкая, Э. Жакет, С. В. Копылова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
dasha_tarasova_00_00@mail.ru

Отек легких – патологическое состояние полиэтиологической природы, характеризующееся усиленной транссудацией жидкости из сосудов микроциркуляторного русла легких в интерстициальную ткань или альвеолы. 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила о начале пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Течение и прогрессирование болезни COVID-19 в определенной мере напоминает тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС, SARS) по репликации вируса в нижних дыхательных путях с развитием тяжелых иммунных нарушений и гипоксии, отека легких. Целью данной работы являлось исследование весовых коэффициентов легочной ткани и некоторых биохимических показателей крови крыс при КВЧ-терапии адреналинового отека легких.

Для исследования использовали 30 половозрелых крыс (самок) массой 0,18–0,23 кг. Животные были разделены на группы: интактные животные; контроль – животные, которым воспроизводили адреналовый отек легких (адреналин вводился внутривенно в дозе 0,5 мг/кг); опыт – животные, которым воспроизводили отек, а затем производилась КВЧ-терапия 10 суток по 10 минут на две акупунктурные точки аппаратом КВЧ-ИК терапии портативного со сменными излучателями «СЕМ ТЕСН». Моделирование отека легких производят путем внутривенного введения вазоактивного вещества, в частности адреналина, в дозах от 1,1 до 10,0 мг/кг. Подсчет концентрации сиаловых кислот в плазме крови и в легких, определение весового коэффициента (ВК) и сухого остатка (СО) тканей легких (ВК, СО), подсчет концентрации общего белка, альбумина и фибриногена в плазме крови производился стандартными методами.

При внутривенном введении адреналина у крыс развивался отек легких, что подтверждалось увеличением ВК и уменьшением СО. Также происходило увеличение концентрации сиаловых кислот в легких и с последующим выходом их в кровь. Увеличение концентрации фибриногена, на фоне снижения общего белка и альбумина указывает на острый воспалительный процесс. При действии КВЧ-терапии наблюдалось снижение ВК, имелась тенденция к увеличению СО, происходило снижение уровня сиаловых кислот в легких и плазме крови, концентрации фибриногена, а также повышение общего белка и альбумина, что свидетельствует о положительном терапевтическом эффекте моно-КВЧ-терапии после моделирования адреналинового отека легких у крыс.

ВЛИЯНИЕ БУЗУЛУКСКОГО БОРА НА РАЗНООБРАЗИЕ РАСТИТЕЛЬНОСТИ СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Н. А. Терехова, Т. М. Чердинцева, Е. А. Булгаков, Н. Г. Орлова, А. М. Русанов

Оренбургский государственный университет, 460018, Оренбург, просп. Победы, 13;
terehova_n99@mail.ru

Национальный парк «Бузулукский бор» расположен в пределах настоящей степи Высокого Заволжья, он представлен единым лесным массивом, состоящим из 20 типов леса с преобладанием хвойных пород. Общая площадь соснового леса составляет 111 га. Леса имеют способность аккумулировать в своих пределах значительное количество почвенной и атмосферной влаги, которая обладая высокой теплопроводностью и теплоемкостью формирует специфический мягкий и влажный мезоклимат, распространяющийся как на лесные ландшафты, так и на сопредельные территории, что нашло свое отражение на видовом составе травянистой растительности соседних с лесом пространств.

Работа проводилась на катене, состоящей из пяти ключевых участков, находящихся на расстоянии от 1 до 1,5 км друг от друга в направлении опушка леса – степь, ориентированной на восток. По мере удаления от бора тонконогово-разнотравная растительность, получившая распространение под пологом леса, последовательно сменяется на разнотравно-типчаковую, разнотравно-ковыльную и на типичные для степи типчаково-ковыльную и ковыльную ассоциацию, сформированную в 4,0–4,5 км от соснового бора. Одновременно в той же последовательности с 14 до 7 снижается количество семейств. Установлено, что 4 семейства (Rosaceae, Rosaceae, Asteraceae, Fabaceae) при разной насыщенности присутствуют в границах всех анализируемых площадок. По мере удаления от леса продуктивность фитоценозов уменьшается, что выражается в снижении объема подземной и общей фитомассы и в отношениях подземной массы растений к надземной.

Анализ видового состава разных участков катены с использованием коэффициента Жаккара позволил выявить максимальное различие видового состава между тонконогово-разнотравным и ковыльным фитоценозами ($K_J = 0,44$). Оценка β -разнообразия степной растительности с применением коэффициента Сёренсена – Чекановского показала, что наибольшим сходством обладают типчаково-ковыльные и ковыльные растительные сообщества ($K_{SC} = 0,79$).

Таким образом, Бузулукский бор за счет сформированных в его пределах относительно мягких условий мезоклимата оказывает регулирующее действие на видовой состав фитоценозов прилегающих территорий. Полученные результаты могут быть применены при ботаническом и географическом картировании территорий Высокого Заволжья и при их хозяйственном использовании.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *MYCOLICIBACTERIUM NEOAURUM* ВКМ Ас-1816D

Т. А. Тимакова, В. В. Фокина, М. В. Донова

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
142290, Пущино Московской обл., просп. Науки, 5; tatianka.rz@yandex.ru

Для получения ценных стероидных интермедиатов путем микробиологической конверсии фитостерина используется рекомбинантный штамм *M. neoaurum* Ас-1816D. Целью исследования являлось изучение влияния концентрации глюкозы, дрожжевого экстракта и условий культивирования на характеристики посевного материала для оптимального решения проблемы инокулирования продуктивной стадии биотехнологии получения из фитостерина различных стероидных соединений – ценных предшественников в синтезе стероидных лекарственных препаратов.

Сравнительный анализ, проведенный при оптимизации процесса получения посевного материала, выявил зависимость таких показателей роста миколицибактерий, как биомасса, оптическая плотность (OD), число колониеобразующих единиц (КОЕ), от размера посевной дозы и концентрации глюкозы. Для выращивания рекомбинантного штамма миколицибактерий с целью изучения особенностей его ростовых характеристик в качестве основы использовали среду состава: (г/л): KH_2PO_4 – 0,5, K_2HPO_4 – 0,5, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 1,5, FeSO_4 – 0,005, ZnSO_4 – 0,002, MgSO_4 – 0,2, Tween 80 – 1, глюкоза 10, дрожжевой экстракт 10. Изучение влияния глюкозы проводили в интервале ее концентраций от 10 до 40 г/л, дрожжевых экстрактов на основе *Saccharomyces cerevisiae*, произведенных различными компаниями (Pronadisa (Испания), Helicon (Франция), Difco (США), Biospringer (Франция)) – от 10 до 32 г/л, соответственно. Концентрации источника углерода (глюкозы) и органического азота (дрожжевой экстракт) изменяли в совокупной пропорциональности для поддержания соотношения «углерод/азот».

Результаты показали, что при увеличении посевной дозы в 4 раза не происходит соответствующего увеличения плотности жидкой культуры за 48 часов инкубирования. Определена достаточная посевная доза для получения первого инокулята высокой плотности (сухая биомасса $8 \pm 0,06$ г/л, OD $19 \pm 0,04$, КОЕ $15 \pm 0,9 \cdot 10^{10}$ клеток/мл). Наиболее высокие показатели, составившие $8 \pm 0,08$ г/л сухой биомассы, OD $25 \pm 0,03$, и КОЕ $20 \pm 0,6 \cdot 10^{16}$ клеток/мл достигались при концентрации глюкозы 20 г/л к 36 часам культивирования. Рассчитанное время удвоения рекомбинантного штамма ВКМ Ас-1816D при этом составило $5,9 \pm 0,7$ часов. При концентрации глюкозы 20 г/л кинетические показатели роста посевного материала достигали максимальных значений, увеличение нагрузки глюкозы в два раза приводило к ингибированию роста миколицибактерий. В экспериментах по изучению влияния дрожжевого экстракта от разных производителей на характеристики посевного материала не было выявлено существенного отличия между ростом культуры на дрожжевых экстрактах разных марок.

В результате исследования предложена схема получения посевного материала в две генерации продолжительностью 48 и 36 часов каждая в ростовой среде оптимизированного состава, обеспечивающая инокулирование продуктивной стадии 5%-ной культурой второй генерации, что позволяет достичь высоких показателей целевой активности рекомбинантного штамма.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№21-64-00024).

ХАРАКТЕРИСТИКА ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК И ОЦЕНКА ЕГО ПРОНИЦАЕМОСТИ ДЛЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Е. Ю. Тризна, А. В. Миронова, А. В. Каримова, Д. Р. Байдамынина, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
trizna91@mail.ru

В настоящее время показано, что большинство заболеваний имеет полимикробную природу. В случае синергизма бактерий происходит повышение их устойчивости к антимикробным препаратам, формирование биопленок способствует изменению метаболического профиля бактерии, в результате чего сообщества приобретают кардинально новые свойства, в отличие от мономикробных сообществ. Однако, в случае антагонистического характера взаимодействия бактерий внутри сложного сообщества, может произойти и повышение чувствительности бактерий к негативным факторам окружающей среды.

Было показано, что в составе смешанных сообществ золотистого стафилококка с некоторым клинически-значимыми грамотрицательными бактериями происходит повышение чувствительности последних к антибиотикам широкого спектра действия. Это может быть связано как с изменением состава внеклеточного матрикса, и как следствие повышение его проницаемости для антимикробных препаратов, так и с синтезом факторов антагонизма клетками золотистого стафилококка.

Целью работы было проанализировать изменение биохимического профиля внеклеточного матрикса полимикробных биопленок по сравнению с их моновидовыми сообществами. При анализе биохимического состава матрикса моно- и поливидовых биопленок *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* было показано, что в составе биопленки *S. aureus* – *K. pneumoniae* происходит изменение биохимического профиля внеклеточного матрикса. Так в смешанной биопленке наблюдалось значительное увеличение β -полисахаридов и снижение белкового компонента по сравнению с мономикробными биопленками обоих видов. При анализе матрикса биопленки *S. aureus* – *P. aeruginosa* было установлено значительное снижение α -полисахаридов и белкового компонента по сравнению с биопленкой *P. aeruginosa*. Подобное изменение состава матрикса может способствовать появлению пористых структур в матриксе биопленки, что в свою очередь может приводить к повышению проницаемости матрикса для антибиотиков.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (№ МК-3052.2021.1.4) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-04-00247).

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

Н. А. Трушина, А. А. Печерина, А. А. Брилкина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
t.natalia4@mail.ru

Однодольные растения, в частности, пшеница представляют большой научный и хозяйственный интерес. Создание модельных растений пшеницы с флуоресцентными сенсорами ионов H^+ , Ca^{2+} и АФК является перспективным направлением биотехнологии и физиологии растений. Агробактериальная трансформация растений – наиболее популярный метод трансформации, однако существует ряд ограничений в этой методике для однодольных растений. Кроме того, метаболизм и особенности культивирования *in vitro* однодольных растений отличаются от двудольных, поэтому важен подбор сред и условий культивирования. Целью данной работы является подбор эффективных концентраций фитогормонов и антибиотиков для регенерации пшеницы *in vitro*.

В качестве эксплантов использовали зрелые зародыши, которые выделяли из зерновок яровой пшеницы сорта Дарья. Семена стерилизовали в 80% этанола, 10% гипохлорида натрия,

10% H_2O_2 и выделяли зародыши скальпелем. Из зародышей индуцировали каллусы. При выборе оптимальной концентрации фитогормонов для индукции каллусогенеза использовали среду Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением 2,4-Д в концентрациях 1, 1.5, 2, 2.5 или 3 мг/л. Зародыши пшеницы культивировали 14 дней в темноте или освещении (3000 Люкс, 16/8 свет/темнота) при температуре 25°C. Следующим этапом работы был подбор среды для индукции органогенеза из каллусов. Для этого использовали 14 дневные каллусы, выращенные на среде, подобранной на предыдущем этапе; в питательную среду МС добавляли 6-БАП в концентрациях 1, 2, 3 или 4 мг/л. Органогенез проводили 14 дней на свету.

Для проведения селекции после агробактериальной трансформации растений необходимо использовать оптимальные концентрации антибиотиков, таких как цефотаксим (избавление культуры от агробактерий) и канамицин (селекция трансформированных каллусов и побегов за счет приобретаемого растением гена устойчивости). В экспериментах по подбору оптимальной концентрации цефотаксима, при которой не ингибируется образование побегов использовали антибиотик в концентрациях 250, 300, 400, 500, 600, 700 или 800 мг/л. Отметим, что это летальная для агробактерий концентрация цефотаксима в среде МС составляет 200 мг/л. В экспериментах по определению канамициновой устойчивости пшеницы антибиотик добавляли в питательную среду МС в концентрациях 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 или 200 мг/л. Подбор концентрации канамицина проводили на среде МС, содержащей и не содержащей цефотаксим.

В результате подбора концентраций фитогормонов и условий культивирования было выявлено, что большее количество каллусов образовывалось из зародышей на среде МС с добавлением 2.5 мг/л 2,4-Д в условиях полной темноты при 25°C. Органогенез с наибольшим количеством побегов происходил на среде МС с 3 мг/л 6-БАП. Каллусы пшеницы проявляли высокую резистентность к культивированию на средах в присутствии отдельно 250 мг/мл цефотаксима и всех концентраций канамицина. Однако в селективной среде МС с одновременным добавлением цефотаксима и канамицина требовались минимальные концентрации последнего – 25 мг/л. Следовательно, регенерацию побегов пшеницы после агробактериальной трансформации *in vitro* целесообразно проводить на среде МС в присутствии 3 мг/л 6-БАП, 250 мг/л цефотаксима и 25 мг/л канамицина.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКОГО ФЕНОТИПА МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛЕГКОГО ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО СТРЕССА

В. Е. Туляко¹, Д. М. Кузьмина^{1, 2}, И. В. Мухина^{1, 2}, Н. А. Щелчкова^{1, 2}

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

vladislavi27@yandex.ru

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

Стресс является распространенной причиной психоневрологических заболеваний человека. Под действием множества физиологических механизмов, как острый, так и хронический стресс влияют на центральную нервную систему (ЦНС), нарушая регуляцию нейротрансмиттеров и гормонов в головном мозге. Исследование природы стрессовых состояний показало, что они могут возникать в результате различных воздействий, в том числе хронических. Целью исследования является изучение влияния хронического непредсказуемого стресса в ювенильном периоде на комплекс поведенческих реакций в раннем половозрелом периоде мышей линии C57Bl/6.

Моделирование легкого непредсказуемого стресса проводилось в течение двух недель на 17–30 постэмбриональные дни. При моделировании в течение различных временных периодов ежедневно животным в случайном порядке предъявлялись следующие факторы стресса: влажный подстил, подстил с запахом крыс либо других мышей, наклон клетки под небольшим углом, смена светового режима, неизвестный объект в клетке, тряска клетки, пищевая депривация и депривация воды. В качестве контрольной группы использовались интактные животные того же возраста. Для оценки изменений поведенческого фенотипа использовались следующие поведенческие тесты: «открытое поле», тест Порсолта на принудительное плавание, тест Кроули на социальное распознавание, тест «объектное распознавание», выработка условного рефлекса пассивного избегания. Тестирование поведения проводилось на 31–35 постэмбриональные дни.

При исследовании базовой активности в тесте «открытое поле» у животных экспериментальной группы в сравнении с интактной группой было выявлено снижение исследовательской активности, что проявлялось в снижении длительности принюхиваний и количества вертикальных стоек, а также повышенная тревожность, что проявилось в увеличении длительности груминга. В тесте Порсолта было выявлено увеличение длительности замирания и снижение общей активности в условиях жесткого стресса, что коррелировало с данными теста «открытое поле». При исследовании объектного распознавания нарушения «объектной» рабочей памяти экспериментальных животных в сравнении с контрольными не были выявлены. Легкий непредсказуемый стресс не повлиял на предпочтение социальной новизны у животных: они достоверно больше времени проводили в отсеке с незнакомым животным по сравнению с отсеком со знакомым. При исследовании рабочей памяти при выработке условного рефлекса пассивного избегания животные после моделирования легкого непредсказуемого стресса демонстрировали нарушения: в день проверки они повторно переходили в темный отсек, а сравнение средней разности латентных периодов перехода экспериментальной и контрольной групп показывает достоверное снижение рабочей памяти.

Таким образом, легкий хронический непредсказуемый стресс в ювенильном периоде снижает общую и исследовательскую активность, ухудшает выработку условных рефлексов и способствует развитию тревожного состояния.

СУБМИКРОННЫЕ ЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ МЕЗОПОРИСТОГО ДИОКСИДА КРЕМНИЯ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОНТЕЙНЕРЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ

К. А. Тулякова¹, Е. Л. Гурьев¹, А. В. Юдинцев¹, А. В. Ермаков², Н. Ю. Шилягина¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tulyakova.ksenia@gmail.com

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 1194435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2

Прицельная доставка противоопухолевых препаратов рассматривается в качестве одной из приоритетных задач в современной онкологии. Система доставки лекарств на основе нано- и субмикронных частиц позволяет повысить селективность доставки препарата с целью минимизации негативного влияния на близлежащие здоровые ткани и избирательного уничтожения опухолевых клеток.

В связи с этим целью настоящей работы было исследование субмикронных частиц на основе мезопористого диоксида кремния в качестве носителей фотодинамических агентов порфиразиновой природы.

В работе исследовали тетракис(4-бензилоксифенил)тетрацианопорфиразин (PzVn), синтезированный в ИМХ РАН г. Нижний Новгород, в свободной форме и в составе частиц мезопористого диоксида кремния. Нами были исследованы частицы диаметром ~ 300, 600, 1000 нм. Оценка эффективности загрузки PzVn в частицы с диаметром 600 нм показала, что процент загрузки составляет 30% по массе от исходного раствора. Анализ скорости высвобождения PzVn показал, что время высвобождения порфиразина из частиц с диаметром ~ 300 и 600 нм составляет 6 часов, для частиц диаметром 1000 нм – около 4 часов.

В эксперименте на клеточной культуре рака мочевого пузыря человека T-24 методом флуоресцентной конфокальной лазерной сканирующей микроскопии было показано, что после часовой инкубации PzVn, загруженного в частицы мезопористого кремния диаметром 600 нм, частицы обнаруживаются на наружной мембране клеток, при этом свободный PzVn диффузно распределяется в цитоплазме, локализуясь преимущественно в околоядерной области клеток.

Таким образом, нами было показано, что исследуемые субмикронные частицы на основе мезопористого диоксида кремния могут быть рассмотрены в качестве перспективных носителей фотодинамических агентов порфиразиновой природы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1363, договор № 210ЕП от 29 ноября 2021 г.)

МЕЛАТОНИН КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ РЕГУЛЯТОР ПОВЕДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ

Э. М. Тчанг, И. Н. Лемба

Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, 443086, Самара, ул. Московское шоссе, 34; aisancetchang@gmail.com

В настоящее время нейровоспаление с участием различных провоспалительных цитокинов и активацией микроглии, в т.ч. при инфицировании SARS-CoV2, рассматривается как мощный триггер нарушения поведения, координирующих функций мозга и возникновения ряда нейродегенеративных заболеваний (Путилина М.В., Гришин Д.В., 2020; Yao Y.Y., Ling E.A., Lu D., 2020; Woodburn S.C., Bollinger J.L., Wohleb E.S., 2021 и др.). Следует отметить, что проблема модулирующего влияния биологически активных веществ различного класса на различные функции мозга и поведение в условиях нейровоспаления остается мало изученной. В этом плане внимание привлекает полифункциональный гормон эпифиза мелатонин, обладающий иммуномодулирующим и нейротропным действием (Chen D., Zhang T., Lee T.H., 2020; Lv W.J., Liu C., Yu L.Z., Zhou J.H., 2020 и др.) В исследовании поставлена цель по изучению особенностей влияния мелатонина на поведенческий паттерн взрослых крыс в условиях экспериментальной модели воспаления.

Исследование выполнено на крысах-самцах массой 235 ± 27 граммов с соблюдением всех норм биоэтического отношения к лабораторным животным. Протокол экспериментов утвержден на заседании комиссии по биоэтике Самарского университета. Крысам экспериментальной группы А ежедневно в течение 10 суток в утреннее время внутрибрюшинно вводился 1 мл раствора липополисахарида (ЛПС) *Salmonella typhi* (50 мкг/кг; ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Россия). Крысы экспериментальной группы В по аналогичной схеме получали инъекции ЛПС в сочетании с пероральным введением мелатонина (0,3 мг/кг; Sigma). Крысы контрольной группы по аналогичной схеме получали инъекции 1 мл стерильного физиологического раствора. Поведение животных оценивалось в установках для исследования двигательной активности и тревожности «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (OpenScience, Россия). Производилась видеосъемка поведения крыс в тестовых установках при помощи смартфона, который крепился на специальный штатив. Поведенческие реакции крыс оценивались через 1, 3, 5 и 10 дней действия ЛПС.

В результате проведенного исследования установлено, что действие бактериального ЛПС оказало модулирующее влияние на поведение крыс в различных тестовых установках. Введение ЛПС вызывает прогрессирующее снижение различных вариантов двигательной активности, которое проявляется на фоне относительно выраженных реакций тревожного груминга в установке «Открытое поле». Воздействие ЛПС вызывает сокращение времени пребывания крыс в открытых рукавах установки «Приподнятый крестообразный лабиринт», что также указывает на протревожные эффекты использованной модели воспаления. В лабиринте Барнс крысы, получавшие инъекции ЛПС, затрачивали большее время на поиск истинного убежища, а в тесте на экстраполяционное избавление демонстрировали низкую способность выхода из стрессогенной ситуации. По всей видимости, установленные поведенческие эффекты 10-ти суточного воздействия бактериального ЛПС обеспечены развитием периферического и центрального воспаления и действием провоспалительных цитокинов на структуры головного мозга, связанные с организацией и регуляцией различных компонентов поведения. Крысы, получавшие мелатонин, проявляли более высокий уровень двигательной и исследовательской активности на фоне сравнительно низкого уровня тревожности. Кроме того, мелатонин оказал положительное влияние на когнитивные функции мозга при реализации соответствующего поведения в лабиринте Барнс и тесте на экстраполяционное избавление. В работе обсуждаются возможные механизмы участия мелатонина в организации поведения в условиях развития воспалительной реакции.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ -20°C БАКТЕРИЙ ПОРЯДКА *ENTEROBACTERALES*

А. И. Тютрина^{1,2}, *П. А. Журилов*²

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
nastyia.tutrina@yandex.ru

²Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального исследовательского центра вирусологии и микробиологии, 603950, Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3

Порядок *Enterobacterales* достаточно обширен. Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения, возбудители болезней порядка *Enterobacterales* относятся к крайне приоритетной группе. В настоящее время отмечается значительная роль условно-патогенных микроорганизмов в инфекционном процессе не только человека, но также животных и птиц. Одной из практических проблем бактериологии является сохранение вновь выделенных изолятов бактерий в рабочей коллекции до момента их изучения и помещения штамма в музей культур микроорганизмов. Время хранения культуры в рабочей коллекции может варьировать от 2 месяцев до нескольких лет. При этом штаммы рабочей коллекции должны максимально сохранять свою жизнеспособность и исходные свойства. Методы непродолжительного хранения не могут этого обеспечить, а хранение при сверхнизких температурах доступно далеко не для всех лабораторий. В связи с этим, появляется необходимость оптимизации условий хранения бактериальных культур, в том числе криоконсервации, для продолжительного хранения рабочей коллекции микроорганизмов в лабораторных условиях.

Целью настоящей работы явился подбор оптимального состава криопротектора для криоконсервации при низких температурах $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$ бактериальных культур порядка *Enterobacterales*.

Были протестированы криопротекторы следующих групп: обогащенные с глицерином (криопротектор №1) и обогащенные с глицерином и диметилсульфоксидом (ДМСО) (криопротектор №3), небогатые с глицерином (криопротектор №4) и небогатые с ДМСО (криопротектор №2). Для исследования были отобраны 15 штаммов микроорганизмов, принадлежащих к порядку *Enterobacterales*, выделенных из окружающей среды и идентифицированных с помощью анализа последовательности гена 16s рНК.

В ходе эксперимента была приготовлена бактериальная суспензия из агаризованной суточной культуры в физиологическом растворе 0,5 единиц по стандарту мутности McFarland, что соответствует около 10^8 КОЕ/мл. После центрифугирования осадок ресуспендировали в криопротекторах различных составов. Перед началом хранения криопробирки с культурами культивировали в течение 30 минут при температуре $+4\pm 2^{\circ}\text{C}$. Замораживание проб проводили при $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Процесс восстановления замороженных клеток осуществляли путем быстрого оттаивания при температуре $+37\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 3 минут и слабым встряхиванием. Определение концентрации бактерий в криопротекторе проводили методом подсчета колониеобразующих единиц на чашках Петри.

Результаты проведенных исследований показали, что при замораживании культур при температуре $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$ все 15 штаммов сохранили свою жизнеспособность после 6 месяцев эксперимента. Процент выживаемости микроорганизмов составил: в криопротекторе №1 – 95,79%, в криопротекторе №2 – 93,81%, в криопротекторе №3 – 91,23%, в криопротекторе №4 – 61,43%.

Таким образом, для хранения бактериальных культур порядка *Enterobacterales* при температуре $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 6 месяцев максимально эффективным явился обогащенный криопротектор №1, в составе которого глицерин.

ПРИМЕНЕНИЕ ПЕПТИДЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МИМЕТИКОВ ФАКТОРА РОСТА ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

В. М. Удалова, Я. С. Отряскин, С. И. Пиняев

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, 430005, Саранск,
ул. Большевистская 68; ydlym@mail.ru

Нейродегенеративные заболевания – группа в основном медленно прогрессирующих, наследственных или приобретенных заболеваний нервной системы. Общим для этих заболеваний является прогрессирующая гибель нервных клеток (нейродегенерация) и постепенно нарастающая атрофия соответствующих отделов головного и/или спинного мозга.

Среди препаратов, используемых для лечения патологий головного мозга, выделяют антиоксиданты, блокаторы оксида азота, препараты подавляющие процессы свободнорадикального окисления. Перспективными в настоящее время нейропротекторами являются пептидные биорегуляторы, обладающие высокой физиологической активностью и низкой иммуногенностью.

По составу их можно разделить на 2 группы: 1) полипептидные комплексы, выделенные из мозга крупного рогатого скота или свиней (кортексин, церебролизин и др.); 2) короткие синтетические пептиды (семакс, кортаген, пептид EDR и др.).

Церебролизин- этот лекарственный препарат представляет собой комплекс пептидов с молекулярной массой до 10 кДа, выделенных из головного мозга свиньи. Препарат способствует повышению эффективности ассоциативных процессов в мозге, стабилизирует эмоциональный фон, улучшает умственную активность, память, внимание, способствует регрессу двигательных и экстрапирамидных расстройств.

Благодаря уникальному природному набору активных субстанций церебролизин воздействует на различные «мишени» нейрональных структур и, соответственно, корректирует различные звенья патологического процесса в мозге. В результате сложного взаимодействия комплекса факторов, входящих в состав церебролизина, с нейрональными структурами может быть достигнута нейротрофическая стимуляция различных популяций клеток центральной и периферической нервной системы.

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН на основе структуры четвертой петли BDNF сконструирован и синтезирован низкомолекулярный миметик ГСБ-106, представляющий собой замещенный димерный дипептид, гексаметилендиамидбис (N - моносукцинил-L-серил-L-лизина). Установлено, что ГСБ-106 при его внутривнутреннем введении беспородным мышам и крысам оказывает антидепрессивное действие на различных моделях депрессивно-подобного состояния.

BDNF связывает, по меньшей мере, два рецептора на поверхности клеток, которые способны реагировать на этот фактор роста, TrkB и LNGFR (для рецептора фактора роста нервов с низким сродством, также известного как p75). Вещество также может модулировать активность различных рецепторов нейротрансмиттеров, включая никотиновый рецептор альфа-7. Также BDNF взаимодействует с сигнальной цепью рилина. Экспрессия рилина клетками Cajal-Retzius снижается во время развития под влиянием BDNF. Последнее также уменьшает экспрессию рилина в культуре нейронов.

Результаты экспериментального и клинического изучения нейропротекторной активности пептидов свидетельствуют о возможности их применения в качестве препаратов для лечения различных заболеваний и патологических состояний не только центральной, но и периферической нервной систем.

СОСТОЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ МЕЗОФАУНЫ НА КАТЕНЕ ДО И В ПЕРВЫЙ ГОД ПОСЛЕ РУБКИ ЛЕСА В СРЕДНЕЙ ТАЙГЕ

А. А. Фатеева

Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, 167000, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; fateeva@ib.komisc.ru

Республика Коми расположена на северо-востоке европейской части России. Лесная зона с подзонами южной лесотундры, крайне северной, северной, средней и южной тайги занимает более 95% пространства Республики. Промышленное освоение лесных ресурсов региона началось с середины XIX в. Наиболее интенсивное развитие лесозаготовительной промышленности пришлось на вторую половину XX века. В начале 50-х годов на смену выборочным и условно сплошным пришли сплошные концентрированные рубки, которые и стали основным методом лесозаготовки. К концу 80-х гг. общая площадь лесов, пройденных сплошными концентрированными рубками за предыдущие сорок лет, составляла около 5 млн. га, а объемы ежегодной заготовки леса превысили 25–26 млн. м³. Почвенные беспозвоночные принимают активное участие в деструкции опада и организации круговорота элементов питания, формировании гумуса и повышении плодородия почв. Используемые методы ведения лесного хозяйства часто приводят к изменениям морфологических и физико-химических свойств почв, снижению структурного и таксономического разнообразия популяций почвенных беспозвоночных. Отрицательное воздействие промышленных рубок на почвенную фауну неоспоримо, но открытым остается вопрос о том, каково это влияние и насколько быстро происходит восстановление экологически стабильных сообществ педобионтов.

Исследования проводились в 2020–21 гг. в Сыктывдинском районе (61°54,981' с.ш., 50°32,376' в.д.). Обследован участок на территории Сыктывкарского лесничества. На этом участке согласно порядку следования на катене были заложены три пробные площади: 1 – верхняя часть, представлена до рубки ельником чернично-зеленомошным, занимающим элювиальную позицию, 2 – елово-сосновое сообщество, до рубки располагающееся на склоне и занимающее транзитную позицию, 3 – нижняя часть, представлена до рубки березняком таволговым в долине ручья, занимает аллювиальную или аккумулятивную позицию на катене. Почва отбиралась на пасеках пробоотборниками размером 10x10x5 см на глубину органогенного горизонта 4–7 см на расстоянии 2 м друг от друга. В лабораторных условиях проводили выгонку беспозвоночных на эклекторах и их идентификацию, подсчитывали численность различных таксонов, составляющих ядро почвенной фауны, определяли таксономический состав почвенной биоты.

Анализ состояния почвенной фауны до и в первый год рубки показал драматическое угнетение почвенной фауны на всей катене. Число зарегистрированных таксонов сократилось в 2 раза. Непосредственно после рубки наблюдается ожидаемый остаточный состав почвенной фауны, представленный группами беспозвоночных, составляющих ядро фауны в среднетаежных лесах. Соотношение групп изменяется вследствие обеднения почвенной фауны. Выпадают редкие и наиболее важные группы деструкторов опада. Общая численность почвенной фауны снижается в 3,5 (аккумулятивная), 8 (транзитная) и более чем в 30 раз (элювиальная часть). Соотношение трофических групп меняется в сторону преобладания фитофагов, многие из которых являются лесными вредителями. И это также подтверждает массовое повреждение листьев осиновым листоедом. После рубки численность зоофагов значительно снижается. Численность сапрофагов в верхней части катены остается прежней, а в транзитной и аккумулятивной частях падает.

Работа выполнена в рамках темы НИР № 1021051101423-9-1.6.12;1.6.13;1.6.14.

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ АКТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

М. С. Федорова, А. В. Миронова, Е. Ю. Тризна, А. Р. Каюмов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
MaSFedorova97@mail.ru

На сегодняшний день активный рост численности инфекционных заболеваний во всём мире, вызванных условно-патогенными бактериями, связан с быстрым развитием антибиотикорезистентности. Одним из механизмов устойчивости бактерий к антибиотикам служит образование биопленок, поэтому разработка препаратов, предотвращающих и разрушающих биопленки, является актуальной задачей. *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* – одни из самых распространенных патогенов, в условиях смешанной биопленки способные проявлять взаимодействия как синергического, так и антагонистического характера. Ранее нами было показано, что внесение культуральной жидкости (КЖ) *S. aureus* способствует подавлению жизнеспособности *P. aeruginosa*. Поэтому целью данной работы было выделить фракцию метаболитов *S. aureus*, обладающую наибольшей антимикробной активностью в отношении клеток *P. aeruginosa*.

Зачастую грам-положительные бактерии секретируют антимикробные пептиды, и поскольку добавление культуральной жидкости *S. aureus* приводило к гибели клеток *P. aeruginosa*, подбирали оптимальные условия pH и температур для их выделения. Инкубация суточной культуры *S. aureus* в течение 60 минут в условиях повышенных температур (60°) снижала антибактериальную активность КЖ по сравнению с н.у. (37°), а закисление (pH3) среды повышало антимикробное действие КЖ. Для более точного извлечения целевых метаболитов проводили ступенчатую твердофазную экстракцию (ТФЭ) полученных проб с дальнейшей лиофильной сушкой. В результате наибольшая антимикробная активность наблюдалась во фракциях после ТФЭ. Поскольку бактериоцины способны прикрепляться к поверхности клеток, параллельно проводили их отмывку с клеток *S. aureus* в глициновом буфере (25мМ pH 2.5). В данном случае наблюдалось снижение антибактериального действия. Дополнительно оценивали размерный диапазон пептидов с помощью ультрафильтрации проб на PES-мембранах с отсечкой 3 и 10 кДа. Предполагается, что метаболиты находятся в диапазоне до 3 кДа. Таким образом, оптимальный протокол для выделения фракции метаболитов с наибольшей антибактериальной активностью включает этапы: 1) инкубация суточной культуры *S. aureus* при температуре 37° в течение 60 минут в кислых условиях (pH3) среды; 2) ступенчатая твердофазная экстракция культуральной жидкости с дальнейшей лиофильной сушкой.

Дальнейшие исследования будут направлены на более точную идентификацию данных метаболитов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда (№20-64-47014).

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА БЕЛЫХ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР НА ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ ЖЕЛУДОЧНОКИШЕЧНОГО ТРАКТА

К. М. Файос Баррионэво, И. П. Иванова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
kami_fiallos96@hotmail.com

Возрастные изменения, как известно приводят к снижению резистентности организма. Микробиоценозы слизистых оболочек млекопитающих, находятся в относительном динамическом равновесии. Различные факторы, такие как диета, привычки, окружающая среда, гены и возраст влияют на состав микрофлоры. Согласно некоторым исследованиям, было показано, что типы микробов, которые живут в ротовой полости или кишечнике молодых людей, как правило, более разнообразны и многочисленны, чем в микробиомах пожилых людей. Исследование корреляции состава микробиоты и возраста поможет в выявлении роли, которую микробиом играет в процессе старения и возрастных заболеваниях, и позволит лучше тестировать потенциальные терапевтические вмешательства, направленные на микробиома.

Целью исследования было определение изменений микрофлоры белых крыс-самок линии Вистар в зависимости от возраста для выявления групп бактерий, указывающих на старение.

Животные были разделены на три группы: первая группа самки крыс, возраст 2 месяца; вторая группа - возраст 6 месяцев; а третья группа – возраст 1,2 года. У животных один раз в 7 суток собирали образцы содержимого толстого кишечника и полости рта. Затем готовили мазки и окрашивали по Граму, далее проводили микроскопирование и анализ с помощью цифровой камеры TOUP Cam 10mp. Определяли соотношение грамположительных и грамотрицательных бактерий, выделяя кокки, диплококки, бациллы и спиралевидные бактерии, присутствующие в каждом анализируемом мазке. Для анализа между группами был применен статистический тест ANOVA со значением альфа $p \leq 0,05$ и соответствующими доверительными интервалами (95%).

Полученные результаты показывают, что преобладающими микроорганизмами в полости рта всех исследованных групп являются грамположительные кокки. Напротив, в кишечнике преобладают грамотрицательные палочки. В отношении микрофлоры полости рта наблюдается тенденция к увеличению доли грамположительных бактерий и уменьшению количества грамотрицательных бактерий в возрасте 6 месяцев. Однако с увеличением хронологического возраста (возраст 1,2 года) наблюдается тенденция, обратная упомянутой, то есть процент грамотрицательных бактерий увеличивается, а процент грамположительных бактерий уменьшается. В толстом кишечнике наблюдалась противоположная тенденция, чем в полости рта, то есть процент грамотрицательных бактерий увеличивается, а процент грамположительных бактерий уменьшается в возрасте 6 месяцев. Однако с увеличением хронологического возраста наблюдается тенденция, обратная упомянутой, то есть процент грамположительных бактерий увеличивается, а процент грамотрицательных бактерий уменьшается.

По зарегистрированным результатам и с учетом того, что все группы получали одни и те же продукты и условия жизни были одинаковыми, можно сделать вывод, что есть изменения в микробиологическом сообществе, типичные для процесса старения.

ОСОБЕННОСТИ КАЛЬЦИЕВОЙ АКТИВНОСТИ АСТРОЦИТОВ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ, УСКОРЕННОМ СТАРЕНИИ И ГИПОКСИИ *IN VITRO*

А. Н. Фигурова, М. И. Кривоносов, Р. С. Ярков, М. В. Ведунова, Е. В. Митрошина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

anastasiafigurova@gmail.com

В последние годы значительно возрос интерес к исследованиям функций астроцитов и их роли в адаптационных процессах в ЦНС. В настоящее время нет никаких сомнений в том, что астроциты являются не просто пассивными передатчиками энергетических субстратов и структурными опорами нейронов, но и активными регуляторами большого числа метаболических реакций. Хотя астроциты не являются электрически возбудимыми клетками, они способны передавать межклеточные сигналы с помощью ионов Ca^{2+} , генерируя так называемые кальциевые события, которые могут распространяться между ними, формируя «кальциевые волны». Несмотря на многочисленные исследования, описывающие активность Ca^{2+} в астроцитах, принципы возникновения Ca^{2+} событий в отдельных астроцитах, а также изменения кальциевой астроцитарной сигнализации при различных патологических состояниях все еще не до конца изучены. В связи с этим, цель представленной работы – анализ особенностей кальциевой активности в первичных моноастроцитарных культурах при физиологическом и ускоренном старении и при моделировании гипоксии.

Объектом исследований *in vitro* явились первичные моноастроцитарные культуры коры головного мозга, полученные от мышей линии C57Bl/6. Длительность культивирования контрольных культур составляла 28 дней. Для моделирования ускоренного старения использовали D-галактозу (50 μM), аппликация которой проводилась с 7 по 21 день культивирования (DIV) при каждой смене среды. Моделирование гипоксии выполняли на 21 путем замены стандартной культуральной среды на среду с низким содержанием кислорода. Кальциевый имиджинг в группах «Контроль», «Гипоксия», «D-галактоза», «D-галактоза+гипоксия» проводился на 28 DIV. При моделировании физиологического старения культивирование проводилось 150 DIV, после чего на части стареющих культур проводилось моделирование гипоксии. Регистрация кальциевой активности выполнялась на 157 DIV. Оценку параметров кальциевых событий проводили с помощью реализованного в ходе работы алгоритма для точной детекции кальциевых событий и расчета показателей, описывающих кальциевые события в клетке.

Гипоксическое повреждение приводит к достоверному снижению частоты и увеличению длительности кальциевых событий низкой амплитуды, по сравнению с интактными молодыми клетками. При физиологическом старении наблюдаются события более низкой амплитуды, а также увеличенной длительности, по сравнению с контрольными культурами. При введении D-галактозы наблюдаются низкочастотные, продолжительные кальциевые события низкой амплитуды, по сравнению с интактными культурами, а также достоверное снижение амплитуды кальциевых событий по сравнению с группами с физиологическим старением и гипоксией. Гипоксия вызывает дальнейшее усугубление изменений, вызванных D-галактозой: выявлены наиболее низкоамплитудные, по сравнению со всеми группами, длительные, низкочастные кальциевые события. Такой эффект возможен из-за чрезмерного нарушения метаболизма клеток, увеличения накопления в клетках свободных радикалов, а также гиперактивация рецепторов глутамата при гипоксии, инициирующей гибель клетки.

Таким образом, частота, амплитуда и длительность кальциевых событий изменяется в зависимости от различных физиологических эффектах и патологиях, что поможет выявить закономерности и нарушения в передаче кальциевых сигналов в астроцитах.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ, проект №0729-2020-0061.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА У РЕЦИПИЕНТОВ ОРГАНА ДО ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

А. Е. Филатьева, Е. В. Кондакова, Е. Н. Рябова, М. В. Ведунова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *fila.a@mail.ru*

Хроническая болезнь почек (ХБП), особенно терминальная стадия хронической почечной недостаточности (тХПН) схожа с другими хроническими заболеваниями, такими как хроническая обструктивная болезнь легких, ВИЧ-инфекция, ревматоидный артрит и сердечная недостаточность. Поэтому, как и при любом другом хроническом заболевании в фенотипе наблюдается преждевременное старение, отражающееся на увеличении биологического возраста человека. Большинство пациентов с тХПН длительное время находятся на заместительной почечной терапии – различных видах диализа, однако единственным перспективным способом лечения почечной недостаточности в терминальной стадии является трансплантация здоровой почки. Ожидается, что после трансплантации органа может наступить реверсия биологического возраста или замедление его прогрессирования. Целью данной работы явилось изучение биологического возраста у реципиентов с тХПН до трансплантации почки.

В исследовании приняли участие две группы добровольцев: контрольная группа - здоровые люди без хронических и онкологических заболеваний в возрасте от 23 до 60 лет и группа пациентов с тХПН аналогичного возраста, которым впоследствии была проведена трансплантация почки. Материалом для исследования явилась цельная венозная кровь с добавлением антикоагулянтов Li-гепарина КЗ-ЭДТА, взятая натощак. Четыре показателя для определения биологического возраста, а именно WBC, MCV, RDW-CV, LYM, исследовались на автоматическом анализаторе Abacus Junior 30. Пять биохимических маркера (альбумин, глюкоза, щелочная фосфатаза, креатинин и С-реактивный белок) исследовались на полуавтоматическом анализаторе StatFax 3300 с использованием наборов реагентов ДИАКОН-ДС (Россия). Для определения биологического возраста использовалась модель PhenoAge, учитывающая 9 показателей крови, перечисленных выше.

В результате исследования была установлена значительная возрастная акселерация биологического возраста (>50 лет) у реципиентов до трансплантации почки по сравнению с условно здоровыми добровольцами сопоставимого хронологического возраста.

У пациентов-реципиентов почки производится забор крови спустя 6 и 12 месяцев после процедуры трансплантации. Предполагается исследовать биологический возраст и возможность изменения возрастной акселерации (реверсии биологического возраста) с течением времени после трансплантации здорового органа.

Работа выполнена в рамках проекта госзадания Министерства науки и высшего образования РФ № 0729-2020-0061.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ HER2-СПЕЦИФИЧНЫХ ТЕРАНОСТИЧЕСКИХ НАНОКОМПЛЕКСОВ ДЛЯ СОЧЕТАННОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Н. И. Филяева¹, Л. В. Крылова¹, А. Б. Воловецкий², Е. Л. Гурьев¹, В. А. Воденев¹, И. В. Балалаева¹, А. В. Звягин¹⁻³, Н. Ю. Шлягина¹

¹Университет Лобачевского, 60302, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23; *natasha-philieva2013@yandex.ru*

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

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

В настоящее время бурное развитие переживает таргетная терапия, принцип которой заключается в создании и использовании агентов, способных специфически распознать и элиминировать опухолевые клетки, не оказывая существенного влияния на нормальные клетки и ткани. Направленность за счет использования нанотехнологий пытаются придать целым комплексам, которые включают как диагностические, так и терапевтические компоненты с различным механизмом действия. Примерами таких комплексов могут служить биофункциональные тераностические наноконструкции (БТНК) на основе антистоксовых радиоактивных нанопосредств и таргетного низкоиммуногенного иммунотоксина DARPIn-LoPE, который способен специфически связываться с рецептором HER2 на поверхности опухолевых клеток, разработанные и созданные сотрудниками лаборатории Оптической тераностики ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Целью данной работы являлось исследование динамики биораспределения БТНК в органах и тканях животных с ксенографтными опухолями яичника человека SKOVip-kat со стабильной экспрессией флуоресцентного белка TurboFP635 (Katushka).

Животным вводили БТНК внутрибрюшинно и через 6, 24 и 72 часа после инъекции анализировали содержание БТНК в здоровых органах и тканях и опухолевых узлах. Исследование биораспределения проводили несколькими методами: экстракции, флуоресцентной лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и методом радиометрического анализа

В результате оценки динамики биораспределения было показано высокое накопление БТНК в опухолевых узлах, формирующихся при развитии интраперитонеальной опухоли яичника, с удержанием в них в течение 72 часов с момента введения. Сравнительно небольшое количество БТНК в селезенке, печени, легких и брюшине.

Таким образом, нами было показано, что БТНК избирательно накапливаются и удерживаются в HER2-положительной опухоли яичника человека и практически не накапливаются в здоровых органах и тканях, что свидетельствует об их высоком терапевтическом потенциале.

ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ СЕЛЕКТИВНЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ РЕАКТИВАТОРОВ МУТАНТНОГО БЕЛКА p53(Y220C)

Р. Р. Хадидуллина¹, Э. М. Хусаинова¹, Д. Р. Давлетшин¹, Р. М. Миргаязова¹, В. В. Часов¹, Д. Стефенсон-Кларк², М. Бауд², Э. Р. Булатов¹

¹Казанский федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
nazyrovarania@gmail.com

²Университет Саутгемптона, Великобритания

Белок p53 играет ключевую роль во множестве сигнальных путей, контролирующих клеточный цикл и отвечающих за стабильность человеческого генома. Являясь транскрипционным фактором, p53 реагирует на клеточный стресс, повреждение ДНК или активацию онкогенов. Практически во всех опухолях функция белка p53 инактивирована либо по причине мутаций в гене *TP53*, либо в результате сверх-экспрессии негативных регуляторов p53, таких как E3 убиквитин лигаза MDM2, приводящих к убиквитинированию и протеасомной деградации p53. Для опухолей с мутантным p53 одной из наиболее многообещающих стратегий является восстановление нарушенной транскрипционной активности мутантного белка путем его стабилизации/реактивации при помощи низкомолекулярных соединений.

Целью данной работы является исследование биологических свойств производных (1H-пиррол-1-ил)индазола, рассматриваемых в качестве селективных низкомолекулярных модуляторов p53(Y220C) мутанта.

По результатам биофизических исследований обнаружено, что соединения обладают высокой аффинностью по отношению к белку p53(Y220C) (Kd 0,5-3 мкМ). С помощью колориметрического MTS-теста и биосенсорного клеточного анализатора xCELLigence было показано, что производные (1H-пиррол-1-ил)индазола избирательно снижают пролиферацию опухолевых клеток с мутантным белком p53(Y220C). Цитофлуориметрический анализ подтвердил рост количества апоптотических и некротических клеток после обработки веществами в данных клеточных линиях. По результатам вестерн-блот анализа выявлено, что соединения приводят к повышению экспрессии белков-мишеней p53 (p21, MDM2) в клеточных линиях с p53(Y220C).

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что производные (1H-пиррол-1-ил)индазола могут рассматриваться в качестве низкомолекулярных реактиваторов мутантного белка p53(Y220C).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 19-74-10022.

**ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКИ
МОДИФИЦИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК,
СВЕРХЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕНЫ ФЕРМЕНТА β -ГЕКСОЗАМИНИДАЗЫ А,
IN VITRO И IN VIVO**

А. А. Хазиева, А. А. Шаймарданова, Д. С. Чулпанова, В. В. Соловьева, А. А. Ризванов
Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18;
aliiakhazieva@yandex.ru

Болезнь Тея-Сакса (БТС) является лизосомной болезнью накопления, затрагивающей нервную систему. Мутации гена *HEXA* приводят к нарушению функций кодируемого фермента β -гексозаминидазы А (HexA), что вызывает поражение нервной ткани из-за высокого распространения ганглиозидов в нейронах. БТС характеризуется тяжелой нейродегенерацией, задержкой физического развития и преждевременной смертью. На данный момент заболевание является неизлечимым. Цель исследования – разработка метода генно-клеточной терапии БТС с применением аллогенных мезенхимных стволовых клеток (МСК), генетически модифицированных рекомбинантными аденоассоциированными вирусами, кодирующими кДНК генов *HEXA* и *HEXB* человека.

В работе использовали плазмидные конструкции на основе AAV, кодирующие гены *HEXA* и *HEXB*, rAAV-*HEXA* и rAAV-*HEXB*, соответственно. В качестве контроля была использована плазмидная конструкция rAAV-hrGFP, экспрессирующая репортерный зеленый флуоресцентный белок. Вышеописанными плазмидными конструкциями проводили трансфекцию клеток HEK293T. Через 48 часов после трансфекции в кондиционированной среде генетически модифицированных клеток HEK293T анализировали ферментативную активность HexA с использованием флуоресцентного субстрата MUGS. Наличие α - и β -субъединиц HexA в генетически модифицированных клетках определяли с помощью вестерн-блот анализа. AAV-*HEXA* и AAV-*HEXB* получали с помощью набора AAV helper-free system.

Путем ко-трансдукции AAV-*HEXA* и AAV-*HEXB* получали генетически модифицированные МСК. Стабильную экспрессию трансгенов в МСК-*HEXA*-*HEXB* подтверждали с помощью вестерн-блот анализа и ПЦР-РВ. Крысам линии Вистар внутривенно вводили МСК-*HEXA*-*HEXB* в количестве 4 млн. в 1 мл физраствора ($n = 5$), в качестве контрольных групп использовали крыс, которым внутривенно вводили нативные МСК ($n = 5$) или физраствор ($n = 5$). До введения и каждые 7 дней забирали кровь для анализа ферментативной активности HexA. Через 4 недели после введения забирали органы для исследования клеточности (процента живых клеток) в иммунных органах, определяли цитокиновый профиль в сыворотке крови и лейкоформулу.

В образцах кондиционированной среды HEK293T трансфицированных плазмидами rAAV-*HEXA* или rAAV-*HEXB*, активность HexA выше более чем в 20 раз. В кондиционированной среде МСК-*HEXA*-*HEXB* активность HexA выше в 5 раз, сравнительно с контрольными образцами. Вестерн-блот анализ показал наличие выраженных полос, соответствующих ожидаемым молекулярным массам α - и β -субъединиц фермента HexA в генетически модифицированных клетках. Показано, что после введения МСК-*HEXA*-*HEXB*, в плазме крови крыс на 21 сутки активность HexA увеличивается примерно в 1,5 раза. Введение МСК-*HEXA*-*HEXB* не влияло на клеточность в иммунных органах крыс, лейкоформулу и цитокиновый профиль сыворотки крови крыс, сравнительно с контрольными группами.

При внутривенном введении МСК-*HEXA*-*HEXB* экспрессируется функционально активный фермент HexA, не вызывая иммунного ответа у животных. Полученные данные позволяют предположить, что данный генно-клеточный препарат является эффективным и безопасным и, следовательно, может рассматриваться для лечения БТС, однако для подтверждения терапевтического потенциала необходимы исследования на модельных животных.

АНАЛИЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПУТЕЙ ВЛИЯНИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ РАСТЕНИЙ

П. А. Халецкая, Т. А. Здобнова, М. А. Гринберг, В. А. Воденеев

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
poly.h@mail.ru

Ионизирующее излучение (ИИ) оказывает огромное влияние на живые организмы, реализующееся, во многом, за счет изменения статуса сигнальных систем и модификации стрессовых сигналов. Одним из значимых типов стрессовых сигналов растений являются электрические сигналы (ЭС), возникающие в ответ на различные раздражители. В результате распространения ЭС изменяется активность ряда физиологических процессов, включая фотосинтез, транспирацию, экспрессию генов. К настоящему времени показано, что ИИ способно оказывать эффект на параметры ЭС, вызванных локальным стрессором. В основе изменений, возникающих при воздействии ИИ, лежат механизмы как физиологической, так и генетической регуляции в большинстве за счет активных форм кислорода (АФК), способных не только к повреждающему действию, но и к регуляции различных систем. Физиологическая регуляция компонентов ЭС заключается в изменении активности под воздействием АФК, а генетическая – основывается на изменении уровня экспрессии генов, что обусловлено прямым (деструктивное действие ИИ) и косвенным (изменение активности транскрипционных факторов) влиянием ИИ. Регуляцией на уровне генома объясняется долгосрочность эффектов ИИ у облученных растений и их следующего поколения. Следовательно, для выяснения механизмов влияния ИИ на ЭС необходимо разделить физиологические и генетические пути регуляции.

Исследования были выполнены на 15-дневных проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum*) сорта «Дарья». Оценку генетической регуляции проводили путем анализа уровня экспрессии генов. Для работы анализировали гены белков, которые потенциально могут обуславливать эффекты ИИ на электрогенез. Для определения уровня экспрессии генов применяли метод ПЦР «в реальном времени». Разработка праймеров интересующих генов для ПЦР «в реальном времени» проводилась самостоятельно с соблюдением необходимых параметров. В качестве референсных генов использовали β -актин (ACTB) и гомолог белка слияния вакуолей (MON1). Полученные результаты анализировали по методике $\Delta\Delta Ct$.

У облученных растений снижается порог генерации сигналов, возрастает амплитуда и скорость распространения переменного потенциала. Теоретический анализ потенциальных мишеней ИИ позволил выделить ключевые компоненты электрогенеза, воздействие на которые может объяснить наблюдаемую в экспериментах модификацию ЭС. К ним относятся, в первую очередь, H^+ -АТФаза, NADPH-оксидаза и ионные каналы различных типов. В ходе работы подобраны праймеры для генов белков, участвующих в электрогенезе: H^+ -АТФазы (HA1), NADPH-оксидазы (RBOHs), анионных (CLC1 и ALMT12), калиевых (SKOR и AKT1) и кальциевых (TPC1 и MSL10) каналов. Проведенный анализ относительного уровня экспрессии генов интереса позволяет определить вклад генетической регуляции в эффекты ИИ на стрессовый сигналинг.

Работа выполнена в рамках Госзадания Минобрнауки России № 0729-2020-0061

РЕВАКЦИНАЦИЯ СПУТНИКОМ-V ВЫЗЫВАЕТ Т-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Ш. Хамза, Н. Блатт, Е. Мартынова, А. Ризванов, С. Хайбуллина

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

В 2019 г. была зарегистрирована вспышка «пневмонии неизвестной этиологии» в китайской провинции Ухань. Вскоре, новым штаммом коронавируса был выделен из образцов, отобранных от пациентов, который позже был назван коронавирусом-2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2). Этот вирус оказался новым членом семейства бета-коронавирусов, содержащем множественные патогены человека. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила заболевание, вызываемое Sars-Cov-2, коронавирусом 2019 (COVID-19). Хотя COVID-19 зачастую протекал бессимптомно, у части пациентов заболевание могло быть фатальным. Уровень летальности был выше у пожилых пациентов и у больных с сопутствующим заболеванием. Похоже, что выздоровление от COVID-19 зависит от активации антител и Т-клеточного иммунного ответа на Sars-Cov-2.

Иммунный ответ Т-клеток необходим для защиты от вирусной инфекции. Наиболее эффективными Т-клетками в клиренсе вируса Sars-Cov-2 являются цитотоксические Т-клетки (ЦТК; CD8⁺ Т-клетки). Эти клетки могут идентифицировать и уничтожать клетки, инфицированные Sars-Cov-2. Ранняя активация ЦТК может различать легкую и тяжелую форму заболевания. Это потому, что CD8⁺ Т-клетки могут убивать инфицированные вирусом клетки и предотвращать распространение вируса из верхних дыхательных путей в легкие. Эти клетки также могут снизить передачу вируса от человека к человеку за счет ограничения количества циркулирующего вируса, и в результате инфицированный человек выделяет меньше вирусных частиц. Помимо защиты во время острой инфекции, ЦТК может предотвратить повторное заражение, поскольку при выздоровлении от COVID-19 будет образовываться группа Т-клеток памяти. Эти специфичные для Sars-Cov-2 ЦТК будут готовы удалять инфицированные клетки сразу после заражения.

Активация Т-клеточного иммунного ответа важна для предотвращения заражения Sars-Cov-2. Эти клетки способны распознавать различные эпитопы на вирусном белке. Это затрудняет уклонение вируса от иммунного распознавания и противодействие иммунному ответу. Следовательно, развитие и продолжительность иммунного ответа ЦТК при COVID-19 является надежным показателем защиты от Sars-Cov-2.

Цель исследования: нами были уже проведены исследования, которые показали эффективность вакцины Спутник-V в активации Т-клеточного иммунного ответа. Однако оставалось неизвестным эффект ревакцинации Спутником-V-light на Т клетки.

Нами было проведено исследование по активации Т-клеточного иммунного ответа у людей после ревакцинации. Т-клеточный иммунный ответ на ревакцинацию Спутником-V-light, был проанализирован с помощью «Тигра-тест», производства «Генериум», Владимирская область, Россия. Нами обнаружено, что ревакцинация Спутником-V-light активировал Т клеточный иммунный ответ. Полученные результаты указывают на высокую вероятность предотвращения инфицирования Sars-Cov-2 после ревакцинации вакциной Спутник-V-light. Это утверждение основано на активации Т клеток, распознающих антигены вируса Sars-Cov-2 после ревакцинации.

PRIMING OF NLRP3 INFLAMMASOME ACTIVATION MEDIATES TAMOXIFEN RESISTANCE IN BREAST CANCER

S. Hamza¹, E. E. Garanina¹, G. Tezcan², S. F. Khaiboullina^{1,3}

¹Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, 420008 Kazan, Russia; *shaimaa.hamza@mail.ru*

²Department of Fundamental Sciences, Faculty of Dentistry, Bursa Uludag University, Bursa 16059, Turkey

³Department of Microbiology and Immunology, University of Nevada, Reno, NV 89557, USA

Inflammation is involved in antitumor response to chemotherapy. One of the central mechanisms contributing to inflammation is mediated by Nod-like receptor protein 3 (NLRP3), the part of the inflammasome protein complex. However, the role of NLRP3 on tamoxifen antitumor response remains unknown.

In this study, we investigated the effect of Tamoxifen in NLRP3 induced breast cancer cells *in vitro*.

A breast cancer (MCF7) cell line was treated with lipopolysaccharide (LPS) to prime NLRP3 activation. Cells were then treated with tamoxifen. NLRP3 activation was analyzed by; immune blotting of NLRP3 protein and Gasdermin D (GSDMD) cleavage. IL-1 β secretion was evaluated by ELISA. The effect of tamoxifen on cell viability and progression was determined by Annexin V and sphere formation assays. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA with Tukey's analyses and Kruskal-Wallis's one-way analysis of variance.

Combined LPS-Tamoxifen treatment increased NLRP3 protein synthesis and cleavage of GSDMD and IL-1 β secretion compared to untreated MCF7 cells ($p < 0,005$). Although LPS-Tamoxifen decreased the cell viability and the sphere size for the first 24h compared to untreated cells, the spheres recovered in their size in 72 hours.

Our data suggest that induced NLRP3 expression decreases the antitumor effect of Tamoxifen in breast cancer.

The study was supported by Russian Science Foundation grant #21-74-00048.

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА КОФИЛИН-ОПОСРЕДОВАННОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ЦИТОСКЕЛЕТА НЕРВНЫХ КЛЕТОК В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ В НОРМЕ И ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА
Т. М. Харитонова¹, Ю. М. Пахомова^{1, 2}, В. И. Першин^{1, 2}, Н. Н. Проданец¹, Т. Ф. Ковалева¹, Н. С. Максимова¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *KharitonovaTanya-14@yandex.ru*

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Болезнь Альцгеймера (БА) - нейродегенеративное заболевание, одним из механизмов патогенеза которого является нарушение убиквитин-протеасомной системы (УПС), обеспечивающей протеостаз. В результате происходит накопление аномальных белков, в частности, кофилин-актиновых конгломератов, что приводит к реорганизации цитоскелета нервных клеток и нарушению нейронального транспорта.

Цель работы – изучение влияния компонентов УПС на кофилин-опосредованную регуляцию цитоскелета в головном мозге мышей в норме и при БА, а также изучение изменения белкового профиля нервных клеток при БА.

Исследование проводили на трансгенных мышах линии 5XFAD (модель болезни Альцгеймера) и мышах дикого типа. Перед началом работы проводилось генотипирование мышей. Каждую линию делили на три группы и проводили двустороннюю стереотаксическую инъекцию препарата в желудочки гиппокампа в объеме 1 мкл. Первой группе (контроль) вводили фосфатно-солевой буфер (PBS), второй - ингибитор протеасомы бортезомиб и третьей - ингибитор деубиквитилирующих ферментов PR-619. На 17 день после операции проводили эвтаназию, выделяли гиппокамп головного мозга, быстро замораживали с помощью жидкого азота и хранили при температуре -70°C для дальнейшего исследования методом вестерн-блоттинга. Иммуногистохимическое окрашивание (ИГХ) проводили на криосрезках, полученных после перфузии и фиксации цельного мозга в 4% параформальдегиде.

Ингибирование протеасомы вызывало накопление К-48 убиквитилированного кофилина массой около 100 и 250 кДа у мышей дикого типа, аналогичный эффект в меньшей степени наблюдается и при введении ингибитора деубиквитилирующих ферментов Pr-619. Ингибирование протеасомы приводит к накоплению К-63 убиквитилированного кофилина массой 35–40 кДа у мышей с БА, но не у мышей дикого типа. При исследовании методом вестерн-блоттинга показана колокализация этой протеоформы с сигналом кофилина, что может свидетельствовать об участии К-63 цепей убиквитина в прямой регуляции метаболизма кофилина, не приводящей к протеасомальной деградации. С помощью ИГХ было обнаружено, что ингибирование деубиквитилирующих ферментов приводило к повышению уровня общего кофилина у мышей дикого типа. Кроме того, его уровень снижался при введении PR-619 мышам с БА. У мышей с БА, но не у мышей дикого типа, происходило накопление LC3B-II в ответ на воздействие бортезомиба. Это свидетельство активации аутофагии позволяет предположить существование компенсаторного механизма, позволяющего снизить нагрузку патогенных белков, вызванную блокадой протеасомы при БА.

Таким образом, нами было продемонстрировано участие К-63 цепей убиквитина в прямой регуляции метаболизма кофилина. Более детальное изучение молекулярных механизмов взаимосвязи наблюдаемых процессов может способствовать более глубокому пониманию путей формирования патогенеза нейродегенеративных заболеваний.

CRISPR/CAS9 – РЕДАКТИРОВАННЫЙ ШТАММ *BACILLUS SUBTILIS* КАК ПРОДУЦЕНТ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ *B. PUMILUS*

Д. И. Хасанов, Н. Л. Рудакова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; hasda2149@gmail.com

Учеными Казанского федерального университета была впервые выделена и охарактеризована новая металлэндопептидаза (MprVp) из культуральной жидкости природного штамма *Bacillus pumilus* 3-19. Анализ первичной структуры белка выявил, что новая протеиназа бацилл не имеет аналогов среди прокариотических ферментов и занимает промежуточное положение между двумя крупными семействами металлопротеиназ клана метцинкинов – адамализинами и астацинами. Данные семейства представлены белками эукариот. Идентифицированная металлопротеиназа представляет собой первый бактериальный фермент - гомолог эукариотических астацинов и адамализинов среди внеклеточных протеиназ бацилл, и для более детального изучения структуры и функций данного фермента необходима эффективная система экспрессии целевого белка. В предварительных исследованиях ген металлопротеиназы *B. pumilus* (*mprVp*) был клонирован в экспрессионный вектор pGP382 под сильным конститутивным промотором гена *degQ36* (P_{degQ36}).

Целью настоящей работы явилась трансформация генетической конструкцией, несущей ген *mprVp*, штамма *Bacillus subtilis* $\delta 6$ с deletированными профагами природного штамма *B. subtilis* WT 168 с помощью системы редактирования генома CRISPR/Cas9, а также оценка эффективности полученной экспрессионной системы.

Трансформацию *B. subtilis* $\delta 6$ проводили путем электропорации бактериальных клеток. Для подтверждения наличия в штамме *B. subtilis* $\delta 6$ плазмидного вектора, несущего ген *mprVp* проводили ПЦР – амплификацию с последующим электрофоретическим разделением амплифицированных фрагментов ДНК в горизонтальном 2% агарозном геле.

Изучение динамики роста трансформированного штамма *B. subtilis* $\delta 6$ + *mprVp* показало, что культура демонстрирует экспоненциальный рост до 24 часа, а после 46 часа следует стадия отмирания.

Фермент экспрессируется на протяжении всего роста штамма с максимумом активности на 46 час, что соответствует поздней стационарной фазе роста бактериальной культуры. Для определения доли MprVp в общем пуле детектированной протеолитической активности параллельно определяли уровень активности фермента в присутствии специфического ингибитора металлопротеиназ 1,10-фенантролина (5 мМ). Остаточная активность в присутствии ингибитора составила не более 20%, что указывает на преобладание MprVp в пуле внеклеточных протеаз.

Результатом проделанной работы было получение эффективного штамма-производителя адамализиноподобной металлопротеиназы MprVp, который будет использован при разработке фермента для последующих исследований.

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ХИМИОПРЕПАРАТА 5-ФТОРУРАЦИЛ НА МИКРОВЯЗКОСТЬ МЕМБРАН КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ЧЕЛОВЕКА *А. Э. Хлынова¹, Л. Е. Шимолина^{1, 2}, И. Н. Дружкова¹, М. К. Куимова³, М. В. Ширманова¹*

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *sashahlynova@list.ru*

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Имперский колледж Лондона, Юж. Кенсингтон, Великобритания

Вязкость мембран опухолевых клеток является одним из важнейших биофизических параметров, влияющих на основные функции живой клетки. На сегодняшний день известно, что вязкость опухолевых клеток меняется в процессе химиотерапии. Антагонисты пиримидинов, например, 5-фторурацил (5-ФУ), широко используется для лечения разных форм рака, однако его эффект на биофизические свойства клетки, в том числе на вязкость мембраны, мало изучен. На сегодняшний день оценить изменения вязкости мембран в масштабе микрометра возможно с использованием флуоресцентных молекулярных роторов BODIPY и микроскопии FLIM.

Таким образом целью работы является анализ вязкостных изменений мембран клеток колоректального рака человека HCT116 и HT29 *in vitro* при терапии 5-ФУ с помощью флуоресцентного ротора BODIPY 2 и метода FLIM.

Для исследования были выбраны культуры клеток колоректального рака человека HCT116 и HT29, культивирование проводилось при стандартных условиях (37°C, 5% CO₂, 80% влажности). Химиотерапия проводилась препаратом 5-ФУ в дозах 4 мкМ для HCT116 и 8 мкМ для HT29 (IC₅₀). Вязкостные изменения оценивались с помощью флуоресцентного ротора BODIPY 2, флуоресцентные и FLIM изображения были получены с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM 880, (Carl Zeiss, Germany) с опцией временного разрешения FLIM на основе TCSPC (Becker & Hickl, Germany). Вязкость оценивалась до и после 10 мин, 1, 3, 6 и 24 часов инкубации с препаратом.

Было показано, что на разных временных точках инкубации менялось время жизни флуоресценции ротора, соответственно и вязкость мембран. После 10 мин инкубации с препаратом наблюдается статистически значимое снижение микровязкости с 526 ± 67 сП до 470 ± 117 сП. Через 1 ч зарегистрировано статистически значимое повышение вязкости до 693 ± 105 сП. Далее при длительной инкубации с препаратом наблюдалось снижение вязкости к контрольным значениям $\sim 479 \pm 69$ сП.

Резистентная линия клеток, мембраны которых изначально имели большую вязкость по сравнению с контрольными клетками (521 ± 36 vs 464 ± 33 сП), также подверглась лечению 5-ФУ. В процессе терапии было показано, что на всем протяжении инкубации с препаратом значение вязкости практически не менялось и составляло $\sim 514 \pm 34$ сП.

Вторым этапом работы было изучение вязкостных свойств при действии 5-фторурацила на клетки HT29. На протяжении первых 3 часов инкубации наблюдалась тенденция к повышению вязкости с 565 ± 112 сП до 746 ± 60 сП. Далее к 24 часам инкубации с препаратом значения вязкости снизились до 573 ± 40 сП и были сравнимы с контрольными. Полученные вязкостные изменения свидетельствуют о вовлеченности вязкости мембран в ответ на химиотерапию.

У резистентной линии клеток HT29 также, как и у HCT116 на протяжении всего времени инкубации с препаратом вязкость не изменялась: регистрируемое значение составило $\sim 570 \pm 97$ сП.

Таким образом, результаты показывают значительное повышение вязкости после 1 ч инкубации, а к 24 ч значения вязкости мембран опустились до контрольных. В то время как изменений вязкости у резистентных клеток не выявлено. Полученные данные расширяют понимание механизмов действия противоопухолевых препаратов и индукции резистентности к ним.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 20-14-00111.

СОСТОЯНИЕ КРАСНОЙ КРОВИ ПРИ КАТЕХОЛАМИНОВОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У КРЫС

Т. И. Царева, И. И. Ионова, Д. А. Данилова, А. В. Дерюгина

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tatyana.tsareva.2014@mail.ru

Одним из методов познания сложных механизмов развития патологических процессов в организме является биологическое моделирование. Правильно воспроизведенная модель исследуемого патологического состояния позволяет изучить динамику патологического процесса, метаболические сдвиги, вызванные данной патологией, а также изучить конкретные особенности фармакодинамики и фармакокинетики терапевтических средств, применяемых при данной модели патологического состояния. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смертности и инвалидности во всем мире. Одним из проявлений ССЗ является хроническая сердечная недостаточность (ХСН), которая выражается в неспособности сердца поддерживать нормальное кровообращение. Цель работы - оценить состояние красной крови при катехоламиновом моделировании хронической сердечной недостаточности у крыс.

Исследование проводилось на ($n = 20$) белых крысах самцах линии Wistar массой 200-300 г. Животные случайным образом были разделены на 2 группы. В группе исследования ($n = 10$) выполняли катехоламиновое моделирование ХСН у крыс 3-кратным, через 48 часов, внутрибрюшинным введением адреналина гидрохлорида 0,3 мг/кг и окситоцина 5 ЕД/кг массы тела. Группа контроля получала внутрибрюшинную инъекцию стерильной воды 0,3 мг/кг массы тела. Забор крови производили из подъязычной вены перед первой инъекцией и после моделирования ХСН.

Проводилось исследование агрегационного, электрокинетического и функционального состояния эритроцитов: анализ электрофоретической подвижности эритроцитов методом микроэлектрофореза, агрегационных показателей методом оптической микроскопии путем подсчета одиночных эритроцитов и их агрегатов в камере Горяева, изменение концентрации АТФ и 2,3-ДФГ спектрофотометрически.

В результате исследования эритроцитов после моделирования ХСН наблюдалось значительное снижение ЭФПЭ и рост агрегации эритроцитов относительно показателей интактных животных. При моделировании ХСН изменялся метаболизм эритроцитов, что характеризовалось снижением концентрации АТФ и 2,3-ДФГ.

Таким образом, в условиях катехоламиновой индуцируемой ХСН выявленные процессы в эритроцитах вызывают снижение их способности к деформации, устойчивости к гемолизу и повышению агрегационных свойств крови, что вносит существенный вклад в перфузиологическое обеспечение сердца и должно учитываться при разработке различных терапевтических стратегий.

ДЕСИНХРОНОЗЫ У СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА

А. Д. Черевко, А. В. Перешейн, С. В. Кузнецова

Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *tasya.cherevko@yandex.ru*

Действие различных стресс-факторов, рассогласование цикла «сон-бодрствование» приводят к нарушениям биологических ритмов и развитию десинхронизации. В результате постоянных стрессовых ситуаций, при неспособности противостоять им может развиваться синдром эмоционального выгорания (СЭВ), представляющий собой состояние, при котором происходит умственное, эмоциональное и физическое истощение, характеризующееся нарушением продуктивности в работе, усталостью, бессонницей, подверженностью соматическим заболеваниям. К внешним факторам, предрасполагающим к развитию СЭВ, относятся условия работы (посменный и ночной график) и социально- психологические аспекты деятельности (учеба, альтруистические профессии). Такие индивидуальные особенности как стрессоустойчивость и хронотип относятся к внутренним факторам, определяющим адаптационные возможности.

Целью работы была оценка возможного влияния стрессорных факторов на развитие СЭВ у студентов медицинских вузов. Проведено анонимное анкетирование среди работающих и неработающих студентов медицинских вузов.

Степень СЭВ оценивалась по опроснику Бойко. Результаты опроса в группах работающих и неработающих студентов по доминирующей симптоматике в трех последовательных фазах развития синдрома могут быть интерпретированы следующим образом: фаза напряжения преимущественно проявлялась апатией, состоянием повышенной и часто беспочвенной тревоги, что практически в два раза чаще отмечалось у трудоустроенных студентов; фаза резистенции могла сопровождаться формализацией общения и отношений, проявлением неучтивости, отмечавшихся в трети случаев в группе студентов, не совмещающих учебу и работу. У работающих студентов преобладало эмоциональное истощение, заставлявшее уходить от общения, замыкаться, отмечалась также тенденция к экономии эмоциональных ресурсов. Фаза истощения, главным образом, проявлялась неспособностью входить в положение других людей, соучаствовать, что наблюдалось в обеих группах, с двукратным преобладанием у студентов, занятых после учебы работой, демонстрировавших также неэмоциональное реагирование на определенные ситуации, возможно, в результате психологической защиты. Сформированность всех трех фаз у работающих студентов превышает аналогичный показатель в неработающей группе более чем в два раза.

По результатам определения склонности к развитию стресса (по Т.А.Немчину и Дж.Тейлору) можно констатировать тот факт, что уровень тревоги был более высоким на 1-ом курсе обучения, а к началу 3-го курса он снижался. Это можно объяснить тем, что, поступив в университет, студенты попадают в новые условия, сталкиваются с большим объёмом информации и высокими требованиями, но постепенно адаптируются и привыкают к новому ритму жизни. Затем на 3 курсе уровень тревоги снова повышался, так как именно этот год обучения считается одним из самых насыщенных. Студенты испытывают большую психологическую нагрузку из-за объёма информации, которую нужно усвоить за этот год. Начиная с 4-го курса, уровень тревоги снижался до среднего и оставался таким до конца 6-го года обучения, так как к этому времени студенты уже в значительной мере адаптируются к психологическим нагрузкам.

Анкетирование по Эстбергу с определением хронотипа выявило преобладание нормальных биологических ритмов у большинства студентов на протяжении всего обучения, что может быть объяснено их умением грамотно и рационально распределять своё время в соответствии со своим психологическим и физическим состоянием.

КРАТКОВРЕМЕННОЕ ПРЕБЫВАНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ КИСЛОЙ СРЕДЫ УСИЛИВАЕТ ЕГО ОПСОНИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Т. С. Чурина, Е. А. Раззорова, Е. Н. Горшкова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
tchurina.ttn@yandex.ru

Фагоцитоз – фундаментальный биологический процесс, необходимый для поддержания гомеостаза и элиминации патогенов. Известно, что предварительная опсонизация патогенных частиц существенно повышает эффективность данного процесса. Одними из наиболее охарактеризованных и, возможно, наиболее важных опсонических фагоцитарных рецепторов являются Fc-рецепторы (FcR), в том числе Fc α R, конститутивно экспрессирующийся нейтрофилами человека и связывающий иммуноглобулины класса А (IgA). Несмотря на то, что нативная форма IgA является неэффективным опсоном, ранее нами была показана возможность ее модификации буферными растворами с низким значением рН, которая приводила к расширению спектра связываемых им структурно не родственных бактериальных антигенов. Такая индукция полиспецифических свойств IgA может стать перспективным терапевтическим подходом для создания опсонизирующих антител для борьбы в том числе с бактериальными инфекциями. Актуальность данного исследования подчеркивается также использованием в терапевтической практике комплексных иммуноглобулиновых препаратов для внутривенного введения, где доля IgA может достигать 25% от общей фракции иммуноглобулинов. Однако на сегодняшний день остаётся неизвестным, способна ли опсонизация полиспецифическим IgA влиять на эффективность фагоцитоза. В связи с чем целью настоящей работы стала оценка способности IgA, модифицированного буферными растворами с низкими значениями рН, усиливать эффективность фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови человека.

В работе был использован сывороточный IgA человека в составе иммуноглобулинового комплексного препарата («НПО «Микроген», Россия), очищенный в нейтральном диапазоне рН (рН 7,2–7,4). Модификацию иммуноглобулина проводили, инкубируя его в течение 10 минут в кислом буферном растворе (0,25 М глицин-HCl буфер рН 2,6) в соотношении 1:9, а затем переводя в нейтральную среду (рН 7,4). Его способность влиять на эффективность фагоцитоза оценивали в отношении нестимулированных и стимулированных LPS (100 нг/мл) и TNF-а (25 нг/мл) нейтрофилов, выделенных из периферической крови здоровых по медицинским показателям доноров. В качестве фагоцитируемых частиц были использованы термоинактивированные и FITC-меченные бактериальные клетки *Escherichia coli* BL 21. Анализ проводили методом проточной цитометрии, фиксируя процент клеток, вступивших в фагоцитоз, а также интенсивность флуоресценции, количественно описывающую поглотительную способность данной популяции нейтрофилов.

В результате работы нами было показано отсутствие статистически значимых различий между процентом фагоцитировавших нейтрофилов, как стимулированных, так и не стимулированных. Однако, при равном количестве клеток, вступивших в фагоцитоз, для клеток, стимулированных TNF-а, был зафиксирован повышенный уровень интенсивности флуоресценции спустя 30 минут их совместной инкубации с клетками *E. coli*, опсонизированными полиспецифическим IgA, в сравнении с нативной формой иммуноглобулина. Полученные данные свидетельствуют об увеличении поглотительной способности данной популяции нейтрофилов, и, как следствие, об усилении эффективности фагоцитоза бактериальных клеток.

Таким образом, обработка сывороточного IgA буферными растворами с низкими значениями рН способна повышать его опсоническую активность и, как следствие, усиливать эффективность фагоцитоза предварительно стимулированных нейтрофилов.

НЕСИМВОЛЬНАЯ АРИФМЕТИКА: ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ В ЗАДАЧЕ ВЕРИФИКАЦИИ ОТВЕТА

А. А. Шадрин, В. М. Князева, А. А. Александров

Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург,
Университетская наб., 7–9; *st084359@student.spbu.ru*

Согласно исследованиям, только люди и высшие приматы способны к пониманию концепции символов в арифметических вычислениях. Несмотря на различия между двумя системами количественной оценки (символьной и несимвольной), между ними существуют определенные функциональные связи, а формирование счетных способностей у детей напрямую зависит от оперирования несимвольными объектами в дошкольном возрасте. Понимание взаимосвязей между символьной и несимвольной обработкой даст возможность создавать и использовать инструменты для работы с людьми, имеющими дискалькулию.

Цель исследования - определить особенности вызванных потенциалов (ВП) мозга человека при выполнении несимвольных арифметических операций. Регистрация электроэнцефалограммы производилась 32-канальным энцефалографом «Мицар-ЭЭГ-202» и «WinEEG» (ООО Мицар, Санкт-Петербург, Россия). В эксперименте использовались операции на сложение и умножение с группами точек. Примеры были, условно, разделены на малую проблему (МП - легко вычисляемые примеры) и большую проблему (БП – сложные примеры).

Для анализа были взяты усреднённые амплитуды ВП на интервалах длительностью ± 25 мс от максимальных значений пиков компонент N400 и LPC. Дисперсионный анализ показал, что амплитуда ВП в ответ на предъявление неправильных ответов была достоверно более негативной, что показывает наличие эффекта N400 как в задаче на сложение ($F(1,9) = 11,81$; $p=0,007$), так и в задаче на умножение ($F(1,9) = 11,38$; $p=0,008$). На интервале LPC было обнаружено достоверное взаимодействие факторов Ответ*Проблема в задаче на сложение ($F(1,9) = 13,115$; $p=0,006$) и в задаче на умножение ($F(1,9) = 5,355$; $p=0,046$). Пост-хок анализ показал увеличение амплитуды ВП при предъявлении неправильных ответов в малой ($p=0,007$), но не большой ($p>0,005$) проблеме при выполнении операции сложения.

Для анализа динамики распределения потенциала в ходе выполнения заданий был проведен анализ различий между блоками. При анализе различий между первым и третьим блоком эксперимента амплитуда ВП в теменных отведениях справа была значительно больше ($p<0,001$), как для компонента N400, так и для компонента LPC. При изучении амплитуды ВП компонента N400 в блоках на сложение МП, амплитуда ответа на правильный ответ в первом блоке выше ($p=0,005$). Достоверная разница между правильными и неправильными ответами в первом блоке наблюдается в теменных отведениях, а в третьем – во фронтальных. В блоках на сложение БП, амплитуда N400 на правильный ответ к 3 блоку увеличивается в правой латерализации ($p=0,016$). Разница между амплитудами на правильный и неправильный ответ становится более заметна. В амплитуде компонента LPC, в зависимости от блока, можно обнаружить влияние факторов Ответ ($p=0,003$) и Фронтальность ($p=0,001$).

Таким образом, было установлено, что при выполнении несимвольных арифметических операций возникает компонент N400, отражающий процессы дополнительной семантической активации. С другой стороны формирование компонента LPC, отражающего процессы контекстной интеграции и оценки неправдоподобности неверного ответа, наблюдается только при предъявлении примеров малой проблемы в задаче на сложение, что может быть связано с более сильной интеграцией таких примеров в кортикальных сетях долговременной памяти.

РОЛЬ БРОДЯЧИХ СОБАК В ФОРМИРОВАНИИ ОЧАГОВ ДИРОФИЛЯРИОЗОВ НА ТЕРРИТОРИИ БОЛЬШИХ ГОРОДОВ

О. Ф. Шакирзянова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
olgasakirzanova@gmail.com

Дирофиляриоз – инвазионное заболевание, возбудителем которого является нематода рода *Dirofilaria*. Данное заболевание является единственным гельминтозом в умеренном климате с трансмиссивным путем передачи. Проблема дирофиляриоза обусловлена широкой циркуляцией возбудителя в природной среде и отсутствием надлежащих мер по выявлению и дегельминтизации зараженных животных — облигатных дефинитивных хозяев. Определенную опасность дирофиляриоз представляют и для человека, у которого не достигающие половой зрелости дирофилярии вызывают серьезную патологию.

Среди возбудителей дирофиляриоза выделяют два вида: *D. immitis* и *D. repens*. Дефинитивными хозяевами для обоих видов являются плотоядные, а промежуточным хозяином для гельминтов данного рода служат комары *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*. При укусе комаром животного личинки попадают под кожу, развиваются в течение 2–3 месяцев. Через 2 месяца они становятся неполовозрелыми особями, активно мигрируют по подкожной клетчатке и в другие органы, превращаясь во взрослых особей. Зараженное животное является источником дальнейшего распространения заболевания.

В синантропном очаге заражение комаров происходит через укус инвазированных собак. Рост популяции бродячих животных, массовая их миграция в природе и населенных пунктах, нахождение в непосредственной близости от жилищ людей способствуют возрастанию передачи дирофиляриоза от диких плотоядных к домашним животным и человеку. Из-за невозможности проводить регулярные профилактические обработки бездомных собак расширяется ареал болезни.

Проблема требует изучения, так как в последние годы наблюдается тенденция к резкому увеличению случаев заражения. Если до середины XX века было диагностировано лишь несколько десятков случаев дирофиляриоза, то за вторую половину века их число резко возросло. Ранее эндемичным районом для данного заболевания являлся юг России, в настоящее время дирофиляриоз регистрируют также в центре и на востоке страны. Сейчас на территории Российской Федерации дирофиляриоз регистрируется в Краснодарском крае, Саратове, Нижнем Новгороде, Волгограде, Московской области, Приморском, Хабаровском, Краснодарском, Ставропольском краях, Астраханской, Волгоградской, Ростовской, Липецкой, Воронежской, Саратовской, Самарской и Нижегородской областях.

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ТЕТРА(НАФТИЛ)ТЕТРА(ЦИАНО)ПОРФИРАЗИНА И ЕГО ЖЕЛЕЗОКОМПЛЕКСА В
КАЧЕСТВЕ АГЕНТОВ ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ
ТЕРАПИИ**

Л. Н. Шестакова¹, А. О. Белотелов¹, Т. С. Любова², Л. Г. Клашина², Н. Ю. Шильгина¹

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;

lshn1998@yandex.ru

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева, 603950, Нижний Новгород,
ул. Тропинина, 49

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является перспективным методом лечения заболеваний, в том числе онкологических. Несмотря на ряд преимуществ, предоставляемых ФДТ, в настоящее время у метода существуют определённые недостатки, среди которых можно выделить низкую селективность накопления фотосенсибилизатора в опухоли и отсутствие раннего контроля эффективности проводимой терапии.

В связи с этим целью нашей работы было сравнительное исследование тетра(нафтил)тетра(циано)порфиразина и его железокомплекса в качестве потенциальных агентов для персонализированной фотодинамической терапии.

Исследуемый в работе тетраakis(2-нафтил)тетра(циано)порфиразин и его железокомплекс были синтезированы в ИМХ РАН г. Н.Новгорода.

Нами было продемонстрировано, что исследуемые ФС имеют несколько полос поглощения, локализованных в коротковолновой (Соре-полоса) и в длинноволновой (Q-полоса) областях спектра, при этом присутствие катиона железа в макроцикле приводит к сдвигу Q-полосы в более длинноволновую область спектра. Нами было показано, что анализируемые ФС характеризуются сильной зависимостью флуоресцентных свойств, таких как квантовый выход и время жизни возбужденного состояния, от вязкости среды, что является подтверждением их принадлежности к классу молекулярных роторов.

В экспериментах на культуре эпидермоидной карциномы A431 нами было показано, что исследуемые ФС характеризуются высокой скоростью накопления в клетках – максимум накопления достигается не более, чем через 3 часа с начала инкубации, при этом скорость накопления свободного основания ниже, чем железокомплекса.

Анализ внутриклеточной локализации показал, что исследуемые ФС накапливаются в цитоплазме клеток, локализуясь преимущественно в мембранных структурах клетки. Использование специфичных красителей на органеллы позволило установить, что железокомплекс порфиразина не накапливаются в лизосомах и митохондриях клетки.

Таким образом, сравнительное исследование тетра(нафтил)тетра(циано)порфиразина и его железа комплекса показало, что анализируемые ФС могут быть рассмотрены в качестве агентов для персонализированной ФДТ.

Работа поддержана стипендией Президента РФ молодым ученым и аспирантам СП-1609.2021.4.

ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *RHODODENDRON*

Д. М. Шилина, В. В. Сырова, А. Е. Макарова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
shilina-darya00@mail.ru

Озеленение является ключевым направлением благоустройства территорий. Одним из первоклассных материалов для озеленения является род – *Rhododendron*, крупнейший в семействе Вересковые (Ericaceae). Традиционные методы размножения занимают длительное время, при этом могут сохраняться не все признаки материнского растения (особенно у сортов и гибридов). Поэтому размножение данного рода *in vitro* является актуальным направлением. Это позволит сократить сроки размножения новых видов, сортов и гибридов, обладающих высокодекоративными качествами и на выходе получать большее количество однотипных здоровых саженцев.

Целью данной работы является изучение особенностей микроклонального размножения *in vitro* представителей рода *Rhododendron*. Для достижения данной цели был поставлен эксперимент по влиянию различных фитогормонов и их концентраций на рост и развитие *in vitro* некоторых видов и сортов рода *Rhododendron*

Исследование проводилось на базе лаборатории микроклонального размножения растений Ботанического сада ННГУ в зимний период 2021г., и продолжаются до сих пор.

В качестве объектов исследований использовали сорт *Rhododendron Helsinky University*, гибрид *Rhododendron hybrid Marianna v. Weizsacker* и вид *Rhododendron caucasicum var. Rosea*.

В работе использовалась питательная среда Woody Plant Medium с добавлением БАП/ИМК или НУК/КИН в соотношении 1/4 мг/л. Контролем служила среда без добавления гормонов. На каждый вид/сорт/гибрид использовалось по 10 колб каждого варианта среды (2 экспериментальные + контроль), в которые пересаживали по 10 растений. Растения культивировались в помещении при световом режиме 16:8 при t 20°C на протяжении 2 месяцев.

В результате эксперимента, у сорта *Rhododendron Helsinky University* и гибрида *Rhododendron hybrid Marianna v. Weizsacker*, образование побегов II порядка наблюдалось как в контрольной, так и в экспериментальных группах растений. Помимо образования побегов II порядка, снимали показатели длины главного побега у всех объектов исследования.

Наибольшее кущение по сравнению с НУК/кинетином и контролем получилось в колбах с гормональной средой ИМК/БАП в соотношении 1/4 мг/л. Отсюда можно сделать вывод, что влияние таких гормонов как ИМК и БАП стимулируют деление клеток, влияют на скорость их растяжения и стимулируют развитие боковых побегов.

Также в колбах с *Rhododendron caucasicum* наблюдается полное отсутствие образование побегов II порядка, возможно, это связано с условиями произрастания и его историческим происхождением, помимо этого *Rhododendron caucasicum* с трудом поддается культивированию.

В настоящее время исследование о влиянии гормонов и их различных концентрациях на развитие в культуре продолжают. В дальнейшем планируется повторное снятие и анализ результатов, примерно через 4 месяца с начала культивирования рододендронов.

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *ТУРНА LATIFOLIA* В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Г. И. Ширяев, Г. Г. Борисова, М. Г. Малева

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
620000, Екатеринбург, ул. Ленина, 21; schiriaev.grisha@yandex.ru

Техногенное загрязнение окружающей среды является одной из наиболее актуальных проблем Уральского региона, вызванной активной добычей полезных ископаемых. Тяжелые металлы (ТМ) относятся к наиболее распространенным поллютантам, которые в избыточных количествах токсичны для живых организмов. Среди растений выделяют устойчивые виды, которые способны выдерживать действие значительных концентраций ТМ, такие как гелофит рогоз широколистный (*Typha latifolia*). Цель работы – изучение длительного воздействия техногенного загрязнения в результате деятельности медеплавильного комбината на анатомо-морфологические особенности рогоза.

Отбор растительного материала, седиментов и поверхностных вод проводили в середине июля 2018–2021 гг. вблизи медеплавильного комбината АО «Карабашмедь» (КМК), г. Карабаш, Челябинская область. Было выбрано три импактных участка, расположенных на разном удалении от КМК: У-1 (р. Ольховка; 5 км от КМК), У-2 (р. Сак-Элга; 2,6 км от КМК), У-3 (р. Рыжий; 1,6 км от КМК). В качестве фонового был выбран участок вблизи акватории оз. Иртяш, в 55 км от КМК (У-4). Содержание ТМ в поверхностных водах и седиментах определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. По содержанию 6 металлов (Mn, Zn, Cu, Pb, Ni, и Fe) был рассчитан суммарный индекс токсической нагрузки. Для поверхностных вод и седиментов суммарный индекс токсической нагрузки на У-1 составил 55 и 17, на У-2 – 106 и 37 и на У-3 – 307 и 46, соответственно. Таким образом, У-1 можно отнести к территории со значительным уровнем загрязнения, в то время как У-2 и У-3 – с высоким уровнем загрязнения. На всех импактных участках происходило сильное закисление среды, значение рН достигало минимума на У-3 (3,3) по сравнению с фоном, где рН был близок к нейтральному (6,9).

Изучен ряд морфологических показателей *T. latifolia*: высота побега, длина, ширина и толщина листьев, а также длина соцветий. Показано, что на всех импактных участках происходило увеличение толщины листа и уменьшение диаметра побега в среднем на 25%. На У-1 и У-3 наблюдалось достоверное снижение ширины листьев на 42 и 32%, длины листьев – на 18 и 33%, длины соцветий – на 46 и 26%, соответственно. Участок У-2 по данным показателям не отличался от фонового. Достоверное уменьшение высоты побега наблюдали только на наиболее загрязненном участке У-3 (на 23%).

Изучение анатомических параметров листа *T. latifolia* показало, что увеличение толщины листа на импактных участках происходило за счет увеличения толщины эпидермиса (в среднем на 15%) и доли аэренхимы в листе (в среднем на 6%), в то время как толщина мезофилла не изменялась. Увеличение толщины эпидермиса могло происходить из-за повышенной аэротехногенной нагрузки, вследствие которой происходило осаждение поллютантов на листьях рогоза, вызывая необходимость усиления его барьерной функции. В то же время подобные изменения могли привести к снижению поступления CO₂ в листья растений. Соответственно увеличение доли аэренхимы можно рассматривать как компенсаторный механизм.

Таким образом, у *T. latifolia* на загрязненных участках происходят приспособительные изменения на анатомо-морфологическом уровне. Уменьшение длины и ширины листьев, толщины побега, приводящие к снижению продуктивности растений, по-видимому, являются следствием токсического действия ТМ. При этом наблюдались компенсаторные анатомические изменения структуры листа гелофита, направленные на поддержание углеродного баланса.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОЧАСТИЦ $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СВЕТА

А. Ю. Шишкин, В. Ф. Смирнов, О. Н. Смирнова, А. В. Корягин

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
uandshi@yandex.ru

Микро- и наноразмерные частицы оксидов тяжелых металлов (ZnO , WO_3 , TiO_2 и др.) проявляют антимикробную активность по отношению к бактериям и микроскопическим грибам. К основным механизмам ингибирования роста микроорганизмов относят разрушение мембран, ДНК, связывание транспортных белков, АТФ и ферментов. В условиях воздействия света в процессе фотокатализа воды такие химические соединения генерируют активные формы кислорода (АФК), которые способны усиливать их бактерицидные и фунгицидные свойства. Оксиды тяжелых металлов широко используются в промышленности, например в качестве добавок в лакокрасочные материалы, для изготовления катализаторов получения водорода, очистки воды от органических загрязнителей, в медицине и ветеринарии и т.д. Поскольку многие оксиды металлов WO_3 , TiO_2 фотокаталитически активны в УФ спектре, актуальным является поиск соединений, которые генерируют АФК при действии света видимого спектра. Целью работы являлось исследование антимикробной активности микрочастиц $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в условиях темноты и под воздействием света.

Соединения $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ средней диаметром частиц 4658 и 736 нм были получены в НИИ Химии ННГУ, г. Н. Новгород. Внешний вид частиц исследован с помощью сканирующей электронной микроскопии на микроскопе JSM-IT300LV (JEOL, Япония). Объемное и количественное распределение частиц по размерам определяли методом лазерной дифракции при помощи анализатора SALD-2300 (SHIMADZU, Япония). В качестве источников света использовались диодные прожекторы мощностью 30 и 50 Вт. Поверхностная плотность потока излучения составляла 325,5 Вт/м² и 524 Вт/м² соответственно. В качестве тест культур микроорганизмов использовались штаммы бактерий *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P (Американская коллекция типовых культур, США) и грибов *Aspergillus niger* van Tieghen ВКМФ-1119, *Penicillium chrysogenum* Thom ВКМ F-245 Всероссийской коллекции микроорганизмов (ИБФМ РАН, г. Пущино). Для сравнения влияния природы веществ на их антимикробную активность в работе использовали оксид вольфрама III со средним диаметром частиц 674 нм. Антимикробную активность оценивали по выживаемости микроорганизмов: бактерий по уменьшению титра суспензии бактериальных клеток, грибов по количеству спор. Оксиды металлов вносили в концентрации 2 мг/мл. Одни варианты освещались источниками света, другие выдерживались в темноте. Время экспозиции составляло 30 и 120 минут. Контрольные варианты не содержали исследуемых соединений.

Результаты исследования показали, что $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм обладает наивысшей антимикробной активностью из всех исследуемых соединений по отношению ко всем тест культурам микроорганизмов. Свет усиливал антимикробную активность для всех исследуемых оксидов металлов. Антимикробный эффект был наиболее выражен в вариантах с источником света 30 Вт для *E. coli*, 50 Вт для *S. aureus* и 50 Вт для *P. chrysogenum* и *A. niger*.

Таким образом, на антимикробную активность исследуемых соединений могут влиять: природа вещества, размеры микрочастиц, мощность источника излучения и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть Госзадания, проект 0729-2020-0053) с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н.И. Лобачевского).

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ КОККОВЫХ И ПАЛОЧКОВИДНЫХ ФОРМ МИКРООРГАНИЗМОВ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ЛЮДЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

А. С. Шмонина, Е. С. Чуркина, И. П. Иванова

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
ivanova.ip@mail.ru

Изучение флоры ротовой полости человека в различные возрастные периоды имеет значение для понимания резистентности слизистых оболочек к бактериальными и вирусным инфекциям, особенно в период пандемии.

Целью настоящей работы было исследование динамики кокковых и палочковидных форм микроорганизмов в ротовой жидкости у людей разного возраста. Для достижения указанной цели решались следующие задачи: оценить количество рецептируемых букальными эпителиоцитами микроорганизмов, определить процентное содержание грампозитивных и грамотригативных микроорганизмов, изучить процентное содержание кокков и палочек в ротовой жидкости людей разного возраста, идентифицировать стафилококки в ротовой жидкости людей разного возраста.

Проводили исследование ротовой жидкости (слюны) здоровых людей разного возраста. Все испытуемые были разделены на несколько групп: 20–30, 30–40, 40–50 и 50–60 лет. В каждую группу входило 10–15 человек.

Ротовую жидкость собирали утром до завтраки (натощак) в стерильную пробирку. Далее в течение 15–30 минут из полученного материала готовили мазок на предметном стекле для микроскопирования. Мазки окрашивали водным раствором карболового фуксина и по Грамму. Проводили посев ротовой жидкости на селективные питательные среды. Затем выделяли чистые культуры микроорганизмов и идентифицировали их с помощью биохимических дифференцировочных пластин.

Результаты. В результате исследования было выявлено, что во всех возрастных группах преобладают грамотригативные микроорганизмы. Отмечено, что букальный эпителий рецептирует самое высокое количество микроорганизмов у людей в возрасте от 20 до 30 лет, а самое низкое у людей от 50 до 60 лет.

В возрастной группе от 20 до 30 лет процентное содержание кокков составляет 43,7%, от 30 до 40 лет – 32,7%, от 40 до 50 лет – 55,0%, от 50 до 60 лет – 64,9%. Процентное содержание палочек в возрастной группе 20–30 лет составляет 51,9 %, в группе 30–40 лет – 60,5%, в группе 40–50 лет – 27,3 %, в группе 50–60лет – 15,5 %.

Показано, что больше всего кокков содержится в ротовой жидкости людей в возрасте 50–60 лет, а палочек в ротовой жидкости людей в возрасте 30–40 лет. В ротовой жидкости всех возрастных групп был выявлен *Staphylococcus epidermidis*. В возрастной группе 30–40 лет выявлен *S. saprophyticus*.

ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ СТЛА-4 НА СВОЙСТВА И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛМФОЦИТОВ В ОПУХОЛИ И ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ МЫШЕЙ С МЕЛАНОМОЙ В16F0

Е. В. Шурганова¹, А. В. Изосимова^{1,2}, Д. С. Мялик¹, А. Н. Давыдов³, П. В. Железнов², И. А. Шагина^{4,5}, Д. В. Южакова¹, Л. Н. Волчкова¹, О. В. Британова^{1,3-5}, Д. М. Чудаков^{1,3-5}, Г. В. Шаронов^{1,4,5}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; *liza2309shur@yandex.ru*

²Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

³Центрально-европейский технологический институт, 60190, Чехия, Брно, Антонинска, 548/1;

⁴Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

⁵Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1/7

Иммунотерапия ингибиторами иммунных контрольных точек за последние десятилетия произвела революцию в лечении рака. Однако частота ответа на эту терапию по-прежнему ограничена 20–40%, причем только для некоторых типов рака. Более глубокое понимание иммунных реакций терапии поможет в создании более эффективных методов лечения. Целью данного исследования было изучить влияние анти-СТЛА-4 иммунотерапии мышей с меланомой В16F0 на транскриптом и локализацию основных подтипов лимфоцитов в опухоли и лимфатических узлах.

Эксперименты проведены на трансгенных мышях линии C57BL/6^{FoxP3-EGFP} с меланомой В16F0, которых лечили блокирующими антителами к СТЛА4 (Bio X Cell, США). Т-лимфоциты из опухолей, дренирующих лимфатических узлов (дЛУ) и лимфатических узлов с противоположного бока (пЛУ), анализировали с помощью проточной цитометрии, сортировали и анализировали транскриптом и репертуар ТCR. Локализацию Т-хелперных (Th), Т-регуляторных (Treg) и В-лимфоцитов, а также экспрессию Кi67 анализировали с помощью многоцветной иммуногистохимии.

Терапия анти-СТЛА4 в первую очередь влияла на Th лимфоциты. Основные изменения были обнаружены в генах, связанных с окислительным фосфорилированием и с индуцированным регуляторным подтипом (iTreg). Индукция Treg подтверждается увеличением перекрытия репертуаров FoxP3⁺ и FoxP3⁻ CD4⁺ после терапии. Интересно, что степень этих изменений отличалась между дЛУ и пЛУ, что предположительно связано со спектром антигенов, представленных в этих ЛУ. Эти изменения также коррелировали с количеством контактов В-клеток/Treg и плотностью Treg в зонах Т-клеток, особенно в фолликулах ЛУ.

Мы обнаружили, что блокада СТЛА-4 оказывает сильное неспецифическое влияние на лимфоциты. Сравнивая изменения в дЛУ и пЛУ, мы смогли выделить изменения, связанные с опухоль-специфичным ответом. Причинно-следственные связи для этих изменений еще предстоит выяснить, однако их наличие уже может быть использовано как показатель наличия специфического ответа на иммунотерапию ингибиторами контрольных точек.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-15-20072.

ОСОБЕННОСТИ СУЩЕСТВОВАНИЯ МАЛЫХ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СОНИ-ПОЛЧКА (*GLIS GLIS*) В ЭКОТОНЕ ЛИПОВО-ДУБОВЫХ И СОСНОВЫХ ЛЕСОВ НА СЕВЕРНОЙ ГРАНИЦЕ АРЕАЛА

А. В. Шегольков¹, Д. М. Кривоногов¹, А. И. Дмитриев², В. Н. Орлов³

¹Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
deniskrivanogov@mail.ru

²Нижегородский государственный педагогический университет им. Козьмы Минина, 603005, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1

³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33

В результате развития агропромышленного комплекса и освоения человеком территории правобережья Волги облик первоначального ландшафта безвозвратно изменился. Исходя из литературных данных (Национальный атлас почв ..., 2011, карта 15), в правобережье Среднего Поволжья в историческое время проходила граница сосновых и липово-дубовых лесов. В настоящее время в сосновых лесах на границе с сельхозугодиями, заменившими прежние широколиственные леса, сохранились фрагментированные изолированные участки липово-дубового леса с типичной фауной, в том числе и с видами сонь, утраченными в современном аграрном ландшафте.

Начиная с 2016 г. в 4 изолированных участках липово-дубового леса в окрестностях с. Пустынь Арзамасского района Нижегородской области, в местах с наибольшей сомкнутостью крон в произвольном порядке, были размещены 120 гнездовых домиков. Для того, чтобы наиболее точно оценить абсолютную численность каждой малой изолированной популяции и исключить конкуренцию, на участках была создана избыточная плотность размещения домиков. На протяжении летних сезонов 2016–2021 гг. гнездовые домики проверялись 2–3 раза с мая по август и отмечалось их использование полчками и двумя другими видами сонь (орешниковой и лесной). Полчков метили миниатюрными ушными метками. Первые результаты исследований опубликованы ранее (Кривоногов и др., 2019).

Заселенность гнездовых домиков полчками как одиночными особями, так и выводками, оставалась высокой на протяжении всего периода наблюдений. Полчки постоянно использовали более половины гнездовых домиков. Максимально отмечалось до 9 выводков на участке за сезон с 3–6 сеголетками в каждом. Отмеченную численность полчка малых изолированных популяций можно считать высокой, что указывает на их благополучное состояние. По всей вероятности, плодоносящие деревья и крупные кусты лещины обеспечивают устойчивую кормовую базу этих малых фрагментированных популяций. Поскольку регистрация одиночных зверьков достаточно случайна, наиболее удобным показателем для длительного мониторинга и оценки состояния популяции полчка, по нашему мнению, может служить число построенных постоянных гнезд в домиках и число выводков за сезон. Также нами было отмечено полное перекрывание индивидуальных участков всех самцов и самок.

С помощью ушных миниатюрных меток нам удалось показать отдельные перемещения самцов между участками, удаленными на 800 м и изолированными сосновым лесом и 50 м газовой просеки. Это было ожидаемо, поскольку полчки, по литературным данным, существовали в окрестных лесах с. Пустынь еще столетие назад, в 1916 г. (Капланов, Раевский, 1928), и однозначно они смогли пережить естественные сукцессионные изменения леса и вырубки.

Для сохранения биоразнообразия изолированных участков широколиственного леса в хвойных массивах может быть использован опыт Скандинавских стран, в лесном законодательстве которых предусмотрено и широко используется выделение «ключевых местообитаний» площадью 1–1,5 га в бореальных лесах.

СОЗДАНИЕ АЛГОРИТМА ОБРАБОТКИ КРИВЫХ ПЛАВЛЕНИЯ ПРИ PCR-HRM

И. Д. Щечкин, Д. С. Кузнецова

НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий, Приволжский исследовательский медицинский университет, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23

Молекулярная диагностика, на данный момент, является одним из основных этапов лечения онкологических заболеваний. Анализ молекулярно-генетических паттернов опухолей стал основой для разработки таргетных препаратов, воздействующих на конкретные молекулярные мишени злокачественных клеток. Одним из наиболее распространенных методов анализа является ПЦР с плавлением в высоком разрешении (PCR-HRM). Этот метод стал особенно актуален в период пандемии, и на данную тему было опубликовано более 2000 работ за 2021 год. Однако, до настоящего времени сохраняется проблема влияния человеческого фактора на результат выявления мутантных аллелей на основе кривых плавления. Таким образом, с целью повышения точности проводимого молекулярного анализа требуется разработка новых методов автоматического выявления мутантных аллелей и аллелей дикого типа.

Цель работы – создание алгоритма обработки кривых плавления PCR-HRM, который будет способен с высокой точностью выявлять опухоли с соматическими мутациями.

Методом PCR-HRM были проанализированы образцы опухолей различных локализаций (колоректальный рак, рак легких и др.), полученные из парафиновых блоков, образцов крови и ткани опухоли. Каждый отдельный ПЦР тест с последующим плавлением представлял собой отдельный эксперимент с проведенной обработкой результатов. Для одного эксперимента выборка составляла 6-11 образцов, которые были исследованы на наличие 6-8 наиболее распространенных соматических мутаций в генах BRAF, KRAS, NRAS.

Были получены кривые плавления и их производные для каждого образца и каждого гена (BRAF, KRAS, NRAS). Далее для каждой кривой плавления были рассчитаны полиномиальные уравнения от 3 до 7 порядка, описывающие изменения кривых на разных участках, начиная из значимых областей в центре с увеличением области интереса до краев кривых (не более 10 шагов). Полученные коэффициенты, использовались для кластеризации образцов при помощи метода k-ближайших соседей, который при заявленных ранее повторностях (до 50 для одного образца) при усреднении показывал вероятность того, что образец относится к тому или иному классу. Полученные вероятности округлялись по заданному порогу, а соответствующие такому варианту результаты кластеризации использовались снова при построении иерархических дендрограмм, которые подтверждали результаты. При последующей аллель специфической ПЦР или при секвенировании данные о наличии или отсутствии мутации валидировались.

Таким образом, был разработан алгоритм обработки кривых плавления, который способен разделять мутантные аллели и аллели дикого типа при проведении PCR-HRM, что позволит решить проблему человеческого фактора, возникающего при определении соматических мутаций, и ускорить процесс обработки кривых плавления.

Работа выполнена при поддержке программы стратегического академического лидерства Приоритет 2030.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПО МЕТИЛИРОВАНИЮ ДНК ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ: МЕТА-АНАЛИЗ, ИНТЕРПОЛЯЦИЯ НЕДОСТАЮЩИХ ЗНАЧЕНИЙ И ХАИ

И. И. Юсипов, А. И. Калякулина, М. В. Ведунова, М. В. Иванченко

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
yusipov.igor@gmail.com

В работе мы предлагаем методологически завершённый подход для построения моделей машинного обучения, классифицирующих здоровых людей и людей, страдающих различными заболеваниями на основе данных метилирования цельной крови. Наибольшую диагностическую ценность для ранней диагностики различных заболеваний имеет метилирование именно цельной крови, поскольку это малоинвазивный анализ с широкими диагностическими перспективами. Наш подход решает проблемы с гармонизацией данных метилирования из разных наборов. Данные могут быть разного качества, к ним применяются разные методы предобработки. Гармонизация используется для устранения взаимосвязи между данными и условиями их сбора и для минимизации связанных с этим ошибок модели. В предлагаемом нами подходе используется гармонизация с выбором эталонного набора данных, при этом все остальные наборы выравниваются в соответствии с ним. При появлении новых данных для тестирования нет необходимости менять обучающие данные и, следовательно, обученную модель. В нашем подходе используются общепризнанно лучшие типы моделей машинного обучения для классификации данных в табличном представлении, в частности деревья решений с градиентным усилением. Размерность пространства признаков уменьшается для построения портативных моделей. В таких моделях количество признаков имеет тот же порядок, что и в наиболее популярных эпигенетических моделях, таких как часы Хорваца (353 CpG сайта), Ханнума (71 CpG сайт), DNAmPhenoAge (513 CpG сайтов). Портативные модели позволяют использовать их для ранней диагностики различных заболеваний – анализ небольших CpG-панелей дешевле полногеномных анализов. Также предлагаемый подход включает возможность подстановки пропущенных значений (сайтов CpG). Это особенно важно при тестировании модели на новых данных – в отдельных наборах могут быть пропущены некоторые сайты CpG, без которых модель не сможет делать прогнозы. Для лучших моделей с точки зрения точности применяются методы объяснимого искусственного интеллекта (ХАИ) для изучения как глобального влияния отдельных сайтов CpG на прогнозы модели, так и для получения объяснений того, как значения уровней метилирования отдельных сайтов CpG для конкретных субъектов формируют их индивидуальные прогнозы.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках выполнения проекта «Надежный и логически прозрачный искусственный интеллект: технология, верификация и применение при социально-значимых и инфекционных заболеваниях» (договор № 075-15-2020-808).

ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ И КРИВАЯ BOLD ОТВЕТА НА КОРОТКИЙ ЗРИТЕЛЬНЫЙ СТИМУЛ, ИЗМЕРЕННЫЕ ПРИ ПОМОЩИ ПРОТОННОЙ МРС В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ЧЕЛОВЕКА

А. Н. Яковлев¹⁻³, А. В. Грицкова⁴, М. В. Ублинский^{1, 2}, А. В. Манжурицев^{1, 2, 4}, Т. А. Ахадов^{1, 4}, Н. А. Семенова¹⁻⁴

¹НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, ул. Большая Полянка, 22

²Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, ул. Косыгина, 4

³Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, ул. Косыгина, 4

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1

Глутамат (Glu) и γ -аминомасляная кислота (ГАМК) являются основными нейромедиаторами (возбуждающим и тормозным, соответственно). В исследованиях с использованием единичного стимула изменение Glu в коротком периоде времени связано с выпуском нейромедиатора из везикул, так как метаболические процессы имеют недостаточную скорость. Косвенным подтверждением является быстрое заполнение везикул нейромедиатором: характерное время процесса от 1 до 20 с. В работах с использованием длительного стимула (от 30 с) изменения, в основном, связывают с метаболизмом. К настоящему времени известно, что средний уровень ГАМК в ответ на стимуляцию снижается. Поскольку ГАМК также является нейромедиатором и упакован в везикулы, при вовлечении тормозных процессов в обработку зрительного стимула, ожидается увеличение интенсивности ЯМР сигнала ГАМК в коротком периоде. Последующая кинетика будет характеризовать возвращение ГАМК в везикулы. Цель данной работы при помощи ¹H-МРС измерить динамику ГАМК в ответ на короткий зрительный стимул.

МРТ и протонная МРС выполнены на 3Т томографе Philips Achieva dStream. В исследовании приняло участие 33 здоровых волонтера (13 мужчин; 22,7 \pm 2,3 лет). Для зрительной активации использовалась мерцающая с частотой 8 Гц шахматная доска в блоках (3с – стимуляция, 13.5с – черный экран; 15 раз для фМРТ и 40 – МРС). фМРТ-изображения получены при помощи GE EPI со следующими параметрами TR/TE = 3000/40 мс, угол отклонения = 90°, разрешение = 2,4x2,4 мм, толщина среза = 4 мм, число срезов = 30 (83 накопления). Спектры получены при помощи импульсной последовательности MEGA-PRESS (TR/TE = 1500/68мс, NSA = 802, 30x40x25мм) и локализованы в активированной области зрительной коры. Ширина линии и высота сигналов метаболитов определена из аппроксимации резонансных линий Cr (3 м.д.) и NAA (2 м.д.). Количественная обработка спектров выполнена при помощи LCmodel.

Апостериорный тест Даннета выявил статистически значимые изменения ширины линии и высот резонансных линий Cr и NAA. Ширины линий этих метаболитов уменьшаются, а высоты – увеличиваются, причем максимальное изменение наблюдается на 6-й секунде. Статистически значимых изменений уровней Glu и ГАМК не выявлено.

Наше исследование демонстрирует применимость протонной МРС для измерения BOLD-ответа, в том числе и его временных характеристик, в группе испытуемых. Данное изменение показывает преимущество использования МРС в сопоставлении нейронной активности (при помощи BOLD-эффекта) и метаболических уровней.

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАМ-ФЛУОРИМЕТРИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ОВСА, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ПОЛИВА И ЗАСУХИ

А. В. Якунина, Ю. В. Сеницына

Университет Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23;
yakunina.anastasia@gmail.com

Салициловая кислота является биологически активным соединением, участвующим в организации ответа растений на абиотические и биотические стрессы. Янтарная кислота считается физиологическим миметиком салициловой в активации защитных реакций. В настоящее время недостаточно информации о влиянии салициловой и янтарной кислот на основные процессы фотосинтеза у растений, находящихся в условиях абиотического стресса, в частности – дефицита влаги.

Целью работы было изучение влияния обработки семян пшеницы и овса растворами янтарной и салициловой кислот в концентрации 0,05 мМ на показатели максимального (F_v/F_m) и эффективного ($Y(II)$) квантового выхода фотосистемы II, плотность электронного потока (ETR), параметры фотохимического (qP) и нефотохимического (NPQ) тушения у растений пшеницы и овса, выращенных в условиях полива и засухи.

Растения пшеницы твердой (*Triticum durum*) сорта Харьковская 46 и овса посевного (*Avena sativa*) сорта Кречет выращивали в лабораторных условиях. Семена замачивали в дистиллированной воде (контроль), в растворе 0,05 мМ салициловой кислоты, или в растворе 0,05 мМ янтарной кислоты в течение 16 часов. Трехдневные проростки переносили в вегетационные сосуды объемом 200 мл, заполненные грунтом. Растения выращивали при температуре +22...+24°C при естественном освещении и ежедневном поливе. На 5-й день растения делили на группы «полив» и «засуха». Растения группы «засуха» прекращали поливать до окончания эксперимента. На 16-й день выращивания растений проводили определение параметров активности фотосистемы II с помощью прибора IMAGING-РАМ флуориметра.

Установлено, что у растений пшеницы максимальный (F_v/F_m) и эффективный ($Y(II)$) квантовые выходы фотосистемы II и коэффициент фотохимического тушения (qP) не менялись при обработке кислотами в условиях полива, но в условиях засухи данные показатели были немного выше у обработанных растений. Показатель нефотохимического тушения (NPQ) зависел от вида обработки. Применение салициловой кислоты в условиях полива немного снижало NPQ, а в условиях засухи напротив, повышало данный показатель. Обработка янтарной кислотой приводила к снижению параметра NPQ как в условиях полива, так и засухи. Плотность электронного потока (ETR) в условиях полива немного увеличивалась при обработке салициловой кислотой и почти не менялась при обработке янтарной кислотой. В условиях засухи ETR была выше у обработанных растений пшеницы по сравнению с необработанным контролем. У растений овса при обработке салициловой кислотой максимальный (F_v/F_m) квантовый выход фотосистемы II не менялся в условиях полива, но немного снижался в условиях засухи. При обработке янтарной кислотой значение F_v/F_m было выше контрольного в условиях полива, но в условиях засухи данный параметр снижался на 2% по сравнению с необработанным контролем. Показатели $Y(II)$, qP и ETR не менялись в условиях полива и засухи при обработке янтарной кислотой, но можно отметить, что при обработке салициловой кислотой эти показатели были в условиях полива ниже, а в условиях засухи – выше по сравнению с контролем. Показатель NPQ в условиях полива был выше у обработанных растений овса, и ниже по сравнению с контролем в условиях засухи.

Таким образом, обработка семян пшеницы 0,05 мМ салициловой и янтарной кислотой повышала активность фотосистемы II в условиях дефицита влаги, что может способствовать повышению устойчивости растений пшеницы к засухе. У растений овса более выраженное действие оказала обработка салициловой кислотой.

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА РОСТ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПИГМЕНТЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ И ГЕРБИЦИДОВ **А. И. Якупова¹, И. А. Автушенко¹, К. А. Федорова², Ю. М. Сотникова¹, О. В. Ласточкина²**

¹Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32;

albinayakupovaa@yandex.ru

²Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа, просп. Октября, 71

Пшеница (*Triticum aestivum*) является наиболее ценной и широко возделываемой злаковой культурой в мире. Абиотические стрессовые факторы среды и/или их комбинации существенно снижают рост, урожайность и качество зерна пшеницы. Актуальным является поиск и разработка биологических подходов повышения стресс-устойчивости и урожайности растений для применения в экологически-ориентированных технологиях возделывания пшеницы. В данной работе нами было исследовано влияние праймирования семян эндофитными бактериями *Bacillus subtilis* (штамм 10-4) на рост, содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов) и урожайность пшеницы в условиях комбинированного воздействия почвенной засухи и гербицидов.

Вегетационные опыты проводились на растениях *T. aestivum* сорта Экада 70 при выращивании в условиях комбинированного воздействия гербицидов и почвенной засухи (горшочные эксперименты в контролируемых условиях). Праймирование семян *B. subtilis* 10-4 проводили путем замачивания семян в культуральной жидкости бактерий (опыт) или воде (контроль). Комбинированный стресс моделировали в фазу 3–4 листа путем опрыскивания гербицидом Секатор Турбо (Байер, Германия) и приостановкой полива растений (до достижения дефицита воды, на 60% ниже нормального полива контрольных вариантов) с последующим возобновлением полива. Анализ параметров роста и элементов структуры урожая проводили с использованием классических методов. Концентрацию фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрическим методом.

Установлено, что совместное воздействие засухи и гербицидов существенно тормозило ростовые процессы растений, снижало содержание фотосинтетических пигментов хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов, а также приводило к уменьшению количества продуктивных стеблей, размера колосьев и массы зерен в сравнении с контрольными нестрессированными вариантами. Выявлено, что праймирование семян эндофитными бактериями *B. subtilis* 10-4 улучшало всхожесть семян пшеницы и рост растений (длину корней и наземной части), как в нормальных условиях произрастания, так и при комбинированном воздействии засухи и гербицидов. Также под их влиянием происходило накопление фотосинтетических пигментов хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов, увеличивалось количество продуктивных стеблей, число и размер колосьев, масса зерен и их урожайность.

Полученные данные демонстрируют эффективность применения эндофитных бактерий *B. subtilis* 10-4 для стимуляции роста и защиты фотосинтетического аппарата растений пшеницы от повреждающего действия почвенной засухи и гербицидов, что отражается в формировании лучшего урожая зерна в этих условиях.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ (№ 22-26-00076).

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абдракова Г. И.....	4	Белых Д. В.....	26, 188
Абидуллина А. А.....	5	Белых Е. С.....	89
Авальбаев А. М.....	168	Белых Н. Д.....	26
Автушенко И. А.....	6, 265	Бердникова О. С.....	27
Агеева М. Н.....	56, 84, 147, 152, 166	Березина Е. В.....	90, 129, 196
Александров А. А.....	252	Беренцева С. В.....	28
Александрова Н. А.....	88	Беркутова Е. С.....	29
Алексеев Д. Ю.....	7	Благодравова А. С.....	86
Алилова О. Р.....	8	Блатт Н.....	244
Аллагулова Ч. Р.....	168	Бобык С. З.....	21
Алмуграби Е.....	46	Богер Э. Р.....	30
Алшиха А.....	9	Богомолова А. Ю.....	31
Андриянов П. А.....	99	Бодякшина Е. В.....	32
Аникина Н. А.....	80	Болобан А. М.....	33
Анисимова Е. А.....	10, 97	Большакова А. Д.....	34
Антонян А. Э.....	38	Бондаренко Е. В.....	173
Ариуа Х.....	11	Борисова Г. Г.....	28, 256
Асманкина В. С.....	12	Бочарин И. В.....	35
Асташев М. Е.....	39	Бочкарев Л. Н.....	112
Ахадов Т. А.....	263	Бреннер П. К.....	36, 95
Ахатова Ф. С.....	97	Брилкина А. А.....	56, 84, 90, 129, 166, 196, 216, 229
Ахметшина М. Р.....	18	Британова О. В.....	259
Ачкасова К. А.....	13	Брусницын Д. В.....	148
Ачкасова М. А.....	14	Брюхова Д. Д.....	37
Ашина Е. Ю.....	139	Бугрова Ю. С.....	55
Бабаев А. А.....	125	Будруев И. А.....	38
Бабаев В. М.....	193	Букатин А. С.....	81
Бабайкина О. Н.....	73	Булатов Э. Р.....	241
Бабина Д. Д.....	172, 173	Булгаков Е. А.....	226
Баврина А. П.....	212	Булыгина Е. А.....	203
Баданина Д. М.....	15	Булынина С. С.....	14
Баженов А. Ю.....	16	Бурмистров Д. Е.....	39
Баженова С. К.....	16	Буянова А. А.....	40
Байдамшина Д. Р.....	110, 150, 228	Валеева Л. Р.....	61, 200
Байчурина И. А.....	17	Валитова Ю. Н.....	193
Бакалини М. Дж.....	105	Варламова В. С.....	41
Бакиев А. Г.....	215, 220	Ведунова М. В.....	54, 87, 101, 105, 115, 117, 125, 165, 191, 192, 199, 206, 208, 238, 239, 262
Баклаушев В. П.....	201	Велегжанинов И. О.....	26, 89, 188
Балалаева И. В.....	49, 55, 62, 98, 120, 181, 204, 216, 240	Велижанина М. Е.....	224
Баранова А. Н.....	18	Вершинина Е. Р.....	42
Батенькин М. А.....	71	Вершинина О. С.....	43, 115
Бауд М.....	241	Веселова В. Р.....	44
Баушева Д. К.....	19	Веселова Т. А.....	159, 197
Баштовенко К. А.....	20	Ветрова Я. А.....	196
Безруков Н. А.....	21	Воденеев В. А.....	19, 56, 122, 166, 216, 240, 243
Бекмансуров М. В.....	94	Воденеева Е. Л.....	52, 77, 217
Белаш В. О.....	174	Волкова П. Ю.....	172, 173, 182
Белкина Е. Г.....	209	Воловецкий А. Б.....	19, 33, 240
Белов А. А.....	22	Волочнева В. Д.....	45
Белова И. В.....	131	Волчкова Л. Н.....	259
Белова К. Д.....	23	Воронина Е. В.....	73
Белотелов А. Б.....	24	Воронцов Д. А.....	167
Белотелов А. О.....	47, 254	Воскресенская О. Л.....	218
Белюсова В. В.....	25		

Гаврилко Д. Е.....	160	Добрынская В. В.....	63
Гаврилова С. А.....	18	Домнина А. П.....	114
Гаврина А. И.....	100, 106	Донова М. В.....	227
Газизуллина Э. Р.....	148	Дорожкина Д. Ю.....	64
Галиев И. В.....	46	Дружкова И. Н.....	201, 248
Галкин А. П.....	224	Дубенская Н. А.....	65
Галова Е. А.....	86	Дунаевская А. А.....	66
Галочкина Н. Е.....	47	Дюженко С. С.....	182
Ганиев И. М.....	154	Елагин В.....	100
Гаранина Е. Е. (Garanina E. E.).....	245	Елагин В. В.....	5, 38, 106, 119
Гатина А. Э.....	110	Елагин Н. В.....	14
Гафарова Л. Ф.....	150	Елистратова Ю. Г.....	148
Герасимова А. С.....	48	Еникеева А. М.....	67
Гефтер С. Д.....	49, 181	Епифанова Н. В.....	161
Гилязиева З. Е.....	50, 177	Ергольская Н. В.....	68
Гладков А. А.....	81	Еремеева Н. А.....	69
Гладкова Н. Д.....	13, 167	Ерзутов А. И.....	70
Глявина А. М.....	51	Ермаков А. В.....	231
Гнетнева А. Н.....	79	Ермакова Л. М.....	87
Голденкова-Павлова И. В.....	163, 223	Ермакова П. С.....	31, 71
Головина В. В.....	52	Ермилова Т. И.....	103
Голубенко М. А.....	53	Ермолаева С. А.....	41, 207
Голушкова А. Д.....	54	Ермолина Г. В.....	26
Гордеева О. О.....	36, 95	Ерофеева Е. А.....	121
Гордлеева С. Ю.....	111, 144	Ершова А. Н.....	27
Горелов Р. А.....	215, 220	Ефремов Ю. М.....	181
Горохова А. А.....	55	Жакет Э.....	72, 225
Горчаков А. А.....	201	Жаркова Г. В.....	197
Горшкова Е. Н.....	163, 186, 251	Жарова А.-М. Д.....	73
Горячая Т. С.....	114	Железнов П. В.....	259
Григорьев Н. А.....	111	Жирова А. В.....	74
Григорьева Т. В.....	203	Жирова Д. В.....	75
Григорьева Т. М.....	212	Жирова Э. А.....	76
Гринберг М. А.....	56, 155, 166, 243	Жихарев В. С.....	109, 160
Грицкова А. В.....	263	Журавлева Д. Э.....	91
Гришина А. И.....	56	Журавлева Е. А.....	64
Громова Е. Н.....	155	Журилов П. А.....	233
Губарькова Е. В.....	167	Журова Д. А.....	77
Гудков С. В.....	39	Заботин Я. И.....	78
Гурьев Е. Л.....	19, 231, 240	Заварыкин Т. М.....	36
Гурьянов М. С.....	35	Заварыкина Т. М.....	95
Гурьянов О. П.....	193	Загайнов В. Е.....	71
Гусева А. Д.....	57	Загайнова Е. В.....	71, 85, 106, 119
Давидюк Ю. Н.....	132	Зазнобина Н. И.....	34, 63
Давыдов А. Н.....	259	Зайцев В. Ю.....	167
Давыдова Н. Н.....	58	Зайцев Д. Е.....	128, 149
Данилова Д. А.....	171, 249	Зайцев С. С.....	126
Дашинимаев Э. Б.....	100	Заиченко И. Е.....	73
Дегтярев Д. А.....	59	Заславская М. И.....	88
Деев С. М.....	19	Захаров А. В.....	132
Демин И. Ю.....	185	Захарова Е. В.....	79
Дерюгина А. В.....	22, 66, 70, 171, 176, 249	Звягин А. В.....	19, 240
Дерягина М. С.....	60	Здобнова Т. А.....	37, 56, 166, 243
Джабраилова С. М.....	61	Зеленова Е. О.....	80
Дмитриев А. И.....	260	Землянсков М. С.....	81
Дмитриева С. А.....	141	Зиганшин М. А.....	148
Добрынина О. Е.....	62, 204	Зиганшина Э. Э.....	14

Зикрина И. И.....	168
Золин Ю. А.....	82
Зорин В. П.....	98, 103
Зуев К. О.....	139
Зыкова О. Н.....	83
Иванова А. Е.....	170
Иванова И. П.....	12, 140, 237, 258
Иванова П. И.....	27
Иванченко М. В.....	43, 117, 144, 262
Иващенко М. Н.....	22, 66, 70
Игнатова Н. И.....	5, 38, 88, 201
Игошкин Г. А.....	84
Изосимова А. В.....	85, 259
Иконников А. В.....	86
Ильина В. М.....	87, 191
Ионова И. И.....	249
Ипатова А. О.....	88
Исмаилов З. Б.....	89
Исмаилова А. А.....	90, 196
Исса Ш. С.....	154
Исхакова З. И.....	91
Ихлеф А.....	92
Казачков А. А.....	93
Казанцев В. Б.....	81
Калашников И. Н.....	139
Кальясова Е. А.....	74, 116, 187
Калякулина А. И.....	262
Камалтдинов И. М.....	94
Каменский В. А.....	38
Камратов С. В.....	175
Капралова М. А.....	36, 95
Карабут М. М.....	119
Карамышева С. В.....	96
Карасева О. С.....	97
Каримова А. В.....	228
Каримова Р. Г.....	130
Карпеева И. В.....	74
Карпова М. А.....	98
Кашина А. В.....	31, 71, 100
Кашина Д. Д.....	99
Каширина А. С.....	100
Кашицына Е. А.....	101
Каюмов А. Р.....	91, 110, 150, 228, 236
Квичанский А. А.....	16
Керимова С. Н.....	89
Киор А. Ю.....	82
Кирьянова К. А.....	202
Киселева Е. Б.....	13
Клапшина Л. Г.....	47, 254
Князева А. В.....	102
Князева В. М.....	252
Коблов И. В.....	103
Ковалева Т. Ф.....	32, 246
Ковлер Л. Д.....	104
Ковылин Р. С.....	124
Кожуро Ю. И.....	194
Козлов Г. Ю.....	105
Козлов Д. С.....	106, 119
Козлова А. А.....	107
Козлова Н. С.....	108
Колесников А. А.....	109
Колесникова А. И.....	110
Колесова Н. Е.....	213
Колпаков В. Н.....	81
Колчина А. Т.....	111
Кольцова Г. С.....	96
Колядина И. В.....	36, 95
Комарова А. Д.....	112
Кондакова Е. В.....	87, 117, 191, 208, 239
Кононова У. А.....	113
Конторщикова К. Н.....	15
Конюхова О. М.....	60, 198
Копылова С. В.....	93, 151, 221, 225
Корнилова А. И.....	114
Коровин О. А.....	11
Корсакова Д. О.....	87, 115
Корягин А. В.....	257
Костенников А. А.....	154
Кощеева В. М.....	116, 187
Кравченко И. Е.....	103
Кривоногов Д. М.....	260
Кривоносов М. И.....	105, 117, 165, 238
Критченков И. С.....	112
Кропинова И. И.....	118
Крылов Д. П.....	106, 119
Крылова Л. В.....	19, 98, 120, 240
Крысько Д. В.....	115, 192
Кузнецов Д. В.....	118
Кузнецов М. Д.....	121
Кузнецов С. С.....	167
Кузнецова Д. В.....	122
Кузнецова Д. С.....	106, 119, 261
Кузнецова Е. А.....	123
Кузнецова С. В.....	250
Кузьмина Д. М.....	69, 230
Кузьмина Н. С.....	120
Куимова М. К.....	248
Кулизин П. В.....	77
Куликов А. М.....	209
Куприянова О. В.....	203
Курненко А. В.....	177
Курников А. А.....	51
Курочкина А. А.....	124
Кустова А. О.....	125
Кутова О. М.....	19
Кучин К. В.....	87, 191
Лаврухин М. С.....	126
Ладейнова М. М.....	122
Лазаренко Е. В.....	127
Лазебный О. Е.....	209
Лапин В. А.....	128, 149
Лапшин Р. Д.....	212
Ларина М. В.....	129, 196
Ласточкина О. В.....	6, 265

Лебедева А. Н.....	130
Лебединский А. А.....	79
Левичева Е. А.....	131
Лежнева В. Р.....	132
Лексин И. Ю.....	133
Лемба И. Н.....	232
Леньшина Н. А.....	71
Лисаченко Л. К.....	134
Лисицына О. С.....	121
Литти Ю. В.....	64
Лодяной М. С.....	70
Лоскот И. В.....	135
Лубянова А. Р.....	168
Луговицкая Т. Н.....	108
Лукашова Т. А.....	136
Лукина М. М.....	112
Лутфуллин М. Т.....	137
Лутфуллина Г. Ф.....	138, 157
Лыченкова М. А.....	143
Любавина Н. Ю.....	139
Любова Т. С.....	254
Ляпина А. М.....	126
Ляхова А. А.....	139
Мади М. Х.....	140
Мажорина М. А.....	44
Мазина А. Б.....	141, 193
Майоров Н. Д.....	142
Макаренко Е. С.....	143
Макарова А. Е.....	145, 183, 255
Макарова Е. В.....	139
Маковкин С. Ю.....	144
Максимов А. А.....	145
Максимова Н. С.....	32, 246
Малева М. Г.....	28, 256
Малинина П. А.....	33
Мандея М.....	146
Манжурцев А. В.....	263
Манолова А. О.....	16
Марданова А. М.....	137, 138, 157
Маркелова М. И.....	17, 203
Марко А. А.....	147
Мартусевич А. К.....	35, 180
Мартынова Е. В.....	132, 244
Масленникова А. В.....	24, 33
Махмудова О. А.....	148
Медянцева Э. П.....	148
Мелентьев Д. А.....	128, 149
Мелехин М. С.....	214
Мельник А. П.....	150
Мельник Б. С.....	44
Менделева А. Д.....	93, 151
Милюткина М. Ю.....	139
Минибаева Ф. В.....	133, 141, 189, 193
Миргазов Д. А.....	10
Миргаязова Р. М.....	241
Мирза С. А.....	168
Миронова А. В.....	228, 236
Митрошина Е. В.....	165, 199, 238
Михеев В. С.....	152
Михеева Э. Р.....	64
Миценък А. С.....	173
Мищенко Т. А.....	54, 125
Можеров А. М.....	85, 201
Моисеев А. А.....	13
Молодцова Д. С.....	153, 216
Мостякова А. А.....	46
<u>Мохонов В. В.</u>	128, 149
Мохонова Е. В.....	128, 149
Мудрилов М. А.....	155
Муллагулова А. И.....	154
Муллахметова А. Р.....	132
Муллахметова А. Ф.....	203
Мустафина А. Р.....	148
Мухамедшина Я. О.....	17, 154
Мухина И. В.....	32, 69, 81, 86, 230
Мухортов Д. И.....	142
Мшенская Н. С.....	74, 116, 155, 187
Мялик Д. С.....	259
Нефедьева М. В.....	156
Нешев Н. И.....	65
Нигматуллина Л. Ш.....	203
Нигметзянов И. Р.....	154
Николаева А. А.....	138, 157
Новиков В. В.....	210
Новикова Н. А.....	161
Новожилова М. О.....	208
Новоселова А. А.....	158
Норкина Д. Д.....	159, 197
Носкова О. С.....	213
Обедиентова Е. С.....	160
Обухова Л. М.....	15
Огурцов С. В.....	17
Ожегов Г. Д.....	97, 132
Опарина С. В.....	161
Орлов В. Н.....	260
Орлова А. Г.....	51
Орлова Н. Г.....	226
Остолоповская О. В.....	150
Осянин К. А.....	10
Отвагин В. Ф.....	120
Отряскин Я. С.....	162, 234
Охапкин А. Г.....	77
Павленко О. С.....	163
Павлова К. Г.....	51
Панкратов А. А.....	42
Панова Д. А.....	164
Парин С. Б.....	175
Пахомов А. М.....	165
Пахомова Ю. М.....	32, 246
Пашкевич П. А.....	194
Перенков А. Д.....	101, 205, 206, 210
Перешеин А. В.....	211, 250
Першин В. И.....	246
Пескова Н. Н.....	55

Петров А. М.....	123
Петросян М. А.....	114
Петрушина С. А.....	120
Печерина А. А.....	166, 229
Пигарева Я. И.....	81
Пимашкин А. С.....	81
Пиняев С. И.....	146, 162, 234
Пластинина С. С.....	139
Плескова С. Н.....	21, 127
Плеханов А. А.....	167
Плотников А. А.....	168
Плотникова В. Д.....	169
Плотникова К. А.....	170
Погонова Т. И.....	171
Подлущий М. С.....	172, 173
Подобед М. Ю.....	172, 173, 182
Поздняков М. А.....	174
Полевая А. В.....	135, 175
Полевая С. А.....	118, 135
Полозников А. А.....	199
Полозова А. В.....	176
Полянина А. В.....	158
Пономарев А. С.....	50, 177
Пономарева А. А.....	141
Попкова Т. В.....	178
Попова А. Ю.....	179
Поповичева А. Н.....	180
Поспелов А. Д.....	49, 181, 204
Потемкин Е. А.....	96
Потехин А. А.....	214
Празян А. А.....	173, 182
Проданец Н. Н.....	246
Прокин А. М.....	183
Психа Б. Л.....	65
Пухальская Т. В.....	184
Пушкарева Е. И.....	26
Пчелин П. В.....	212
Пыркова В. В.....	185
Раззоронова Е. А.....	186, 251
Ракова Ю. В.....	116, 187
Расова Е. Е.....	188
Рассабина А. Е.....	189
Ратницына Д. А.....	190, 222
Рахматуллина Д. Ф.....	141
Рашидова Л. О.....	191
Редькин Т. С.....	192
Ренкова А. Г.....	193
Репкин Р. В.....	7
Ризванов А. А.....	50, 132, 154, 177, 242, 244
Родимова С. А.....	106, 119
Романова Е. Б.....	169, 215, 220
Ромашева А. А.....	194
Рочева Т. К.....	188
Рубаева А. А.....	195
Рудакова Н. Л.....	247
Румянцева Е. В.....	202
Русанов А. М.....	226
Рыбак А. В.....	89
Рыбин Д. А.....	90, 196
Рыкова М. П.....	76
Рябинина Е. С.....	169
Рябова Е. Н.....	239
Рябова Н. В.....	197
Сабанцева А. А.....	198
Савосенков А. О.....	111
Савюк М. О.....	192, 199
Садртдинова И. И.....	40, 67
Салафутдинов И. И.....	53
Санникова А. В.....	200
Саримов Р. М.....	39
Сацкая Ж. А.....	72, 225
Сачкова Д. А.....	201
Светлова М. В.....	73
Сгибнева Н. В.....	202
Семенова Н. А.....	263
Сенина А. М.....	203
Сенча Л. М.....	62, 204
Сергеев М. А.....	154
Сергеева А. Д.....	205, 206
Сергеева Е. Е.....	207
Серикова А. С.....	208
Серова Д. А.....	26
Сивопляс Е. А.....	209
Симакин А. В.....	39
Симонова В. С.....	210
Синицын П. М.....	185
Синицына Ю. В.....	74, 116, 185, 187, 264
Синюшкина С. Д.....	211
Синягина М. Н.....	203
Сироткина М. А.....	167
Скокова А. А.....	171
Скотникова К. Е.....	159
Скочилова Е. А.....	83
Сметанина Н. В.....	212
Смирнов В. Ф.....	80, 124, 257
Смирнова О. Н.....	80, 257
Смирнова Ю. В.....	4
Советский А. А.....	167
Соколова Е. М.....	65
Соколова М. С.....	213
Соколовский Д. Д.....	214
Соловьева В. В.....	50, 154, 177, 184, 242
Соловьева И. В.....	131
Соломайкин Е. И.....	215
Сороко С. С.....	37, 153, 216
Соснина А. С.....	217
Сотникова Ю. М.....	265
Сперанская Х. С.....	218
Спирина В. Ю.....	159
Старцева Н. А.....	77, 136
Стасенко С. В.....	219
Стефенсон-Кларк Д.....	241
Столярова И. А.....	220
Стрельцова О. С.....	5, 38

Стручкова И. В	113, 147, 152
Субочев П. В.....	51
Судакова И. С	127
Сухаревская О. А.....	93, 221
Сухов В. С.....	82, 179, 190, 222
Сухова Е. М.	82, 179, 190, 222
Сухорукова А. В.....	223
Сынбулатова Г. Э	203
Сырова В. В	145, 183, 255
Сысоев Е. И.....	224
Талаев В. Ю	73
Таламанова М. Н.....	66
Тарасова Д. А.....	72, 225
Терехова Н. А	226
Тимакова Т. А	227
Тимофеева О. А	46
Титов И. А.....	156
Точилина А. Г	131
Тризна Е. Ю.....	110, 150, 228, 236
Трофимова С. В	30, 134
Трусов Н. А.....	163
Трушина Д. Б.....	47, 49, 181
Трушина Н. А	229
Тулякко В. Е.....	230
Тулякова К. А	231
Турубанова В. Д.....	115, 192
Тчанг Э. М.....	232
Тюрин А. А	223
Тютрина А. И.....	233
Ублинский М. В.....	263
Удалова В. М	162, 234
Удоратина А. М.....	89, 111
Улитко М. В.....	108
Фадеев Д. А.....	202
Фархутдинов Р. Г.....	6
Фатеева А. А.....	235
Фахруллин Р. Ф	97
Федоренко С. В.....	148
Федоров А. Ю.....	120
Федорова В. А.....	126
Федорова К. А.....	265
Федорова М. С	236
Федулова Э. Н.....	180
Фийос Баррионуэво К. М.....	237
Фигурова А. Н	238
Филатьева А. Е	239
Филяева Н. И	240
Фокина В. В.....	227
Франчески К.	43, 105
Хабибрахманова В. Р.....	189, 193
Хадиуллина Р. Р.....	241
Хазиахметова В. Н.....	148
Хазиева А. А	242
Хайбуллина С. Ф	132, 244, 245
Халецкая П. А.....	243
Хамза Ш.....	244, 245
Хаммадов Н. И.....	10
Харитоновна Т. М.....	246
Хасанов Д. И.....	247
Хижнякова М. А	126
Хиляс И. В.....	29
Хлопков А. Д	56
Хлынова А. Э.....	248
Ходырев Д. С	36, 95
Хохлова С. В.....	36, 95
Хоченкова Ю. А.....	51
Худяева И. С.....	188
Хусиянова З. А.....	221
Хуснетдинова Л. З	20
Хуснутдинова Д. Р.....	203
Царева Т. И	249
Часов В. В.....	241
Чердинцева Т. М.....	226
Черевко А. Д.....	250
Черкасова Е. И.....	24, 31
Черных А. А.....	89
Чесноков С. А	71
Чкалов А. В.....	210
Чудаков Д. М	259
Чукина Н. В.....	28
Чулпанова Д. С	154, 184, 242
Чурина Т. С	186, 251
Чуркина Е. С	258
Шагина И. А.....	259
Шадрина А. А	252
Шаймарданова А. А.....	154, 242
Шакирзянова О. Ф	253
Шакиров Е. В.....	200
Шарагина Е. М.....	77
Шарипова М. Р.....	61, 200
Шаронов Г. В.....	259
Шатрова А. Н.....	114
Шенфельд А. А	224
Шерудило Е. Г	195
Шестакова Л. Н.....	47, 254
Шестерикова Е. М	173
Шибаета Т. Г	195
Шилина Д. М.	255
Шилягина Н. Ю ...	19, 37, 47, 153, 216, 231, 240, 254
Шимолина Л. Е.	248
Ширманова М. В.....	112, 201, 248
Широков А. И	183
Ширяев Г. И.....	256
Шишкин А. Ю	80, 124, 257
Шкарупа Д. Н.....	212
Шмаров В. А	76
Шмоница А. С.....	258
Шорохов А. А	35
Шульман И. А.....	17
Шурганова Г. В.....	109, 160
Шурганова Е. В.....	259
Щегольков А. В	260
Щелчкова Н. А.....	69, 212, 230

Щечкин И. Д.....	261	Яковлева М. А	75
Юдина Л. М	179	Якунина А. В	264
Юдинцев А. В.....	231	Якупова А. И.....	6, 265
Южакова Д. В.....	85, 201, 259	Ярков Р. С	238
Юлдашев Р. А.....	168	Яруллина Д. Р	97
Юсипов И. И.....	101, 262	Яськова Е. Е.....	27
Юсубалиева Г. М.....	201	Яшин К. С	13, 201
Якимов В. Н.....	48	Tezcan G	245
Яковлев А. Н.....	263		