

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ  
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ  
Направление подготовки 06.03.01 Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

ЧЕШАЕВОЙ АНАСТАСИИ ОЛЕГОВНЫ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «КСИМЕДОН 2» НА  
РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЛАНАРИЙ *GIRARDIA TIGRINA* (PLATHELMINTES,  
*TRICLADIDA*) НА КЛЕТОЧНОМ И ОРГАНИЗМЕННОМ УРОВНЕ


Работа завершена:

«29» мая 2019 г.  (А. О. Чешаева)

Работа допущена к защите:

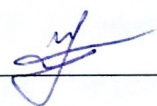
Научные руководители

Кандидат биологических наук, доцент

«30» мая 2019 г.  (А. Г. Порфирьев)

Институт теоретической и экспериментальной  
Биофизики РАН (г. Пущино)

Кандидат биологических наук, с.н.с.

«30» мая 2019 г.  (Х.П. Тирас)

Заведующий кафедрой

Кандидат биологических наук, доцент

«30» мая 2019 г.  (Р. М. Сабиров)

Казань – 2019

## РЕФЕРАТ

Ключевые слова: ПЛАНАРИИ, GIRARDIA TIGRINA, РЕГЕНЕРАЦИЯ, КСИМЕДОН, НЕОБЛАСТЫ, БЛАСТЕМА, КЛЕТКИ.

Работа проводилась на планариях *Girardia tigrina* - бесполой лабораторной культуре плоских червей. Отсекалась приблизительно 1/5 часть тела, которая содержала головной ганглий. После перерезки червей помещали в исследуемый раствор препаратов «Н25» или «Ксимедон 2» в концентрациях  $10^{-7}$  М,  $10^{-9}$  М,  $10^{-11}$  М и  $10^{-13}$  М. В качестве вещества сравнения использовали «Ксимедон» в концентрациях  $10^{-7}$  М и  $10^{-9}$  М.

Для изучения влияния препаратов на регенерацию на организменном уровне использовался метод прижизненной компьютерной морфометрии, который показывает оценку изменения роста бластемы у животных в процессе регенерации. Съёмка планарий проводилась на 72, 120 и 168 час после перерезки. Коэффициент регенерации определялся, как отношение площади отросшей бластемы к общей площади тела декапитированной планарии. Выявлено, что препарат «Ксимедон» в концентрации  $10^{-7}$  М стимулирует отрастание бластемы, а препарат «Н25» в концентрациях  $10^{-9}$  М,  $10^{-11}$  М,  $10^{-13}$  М оказывает ингибирующее воздействие, замедляет регенерацию планарий.

Для оценки регенерации на клеточном уровне использовали митотический индекс. Он определялся в клеточной суспензии, полученной из зоны регенерирующего фрагмента бластемы (0.5 мм), расположенного под раневой поверхностью, регенерирующей планарии. Для идентификации митотических фигур был применен модифицированный метода суспензирования клеток по Багуныя. Получены следующие результаты: препарат «Н25» в концентрации  $10^{-9}$  М оказывает ингибирующее воздействие на пролиферацию клеток в 1,7 раза, «Ксимедон» в концентрации  $10^{-7}$  М стимулирует образование новых клеток в 1,5 раза.



## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	5
1.1 Морфология и систематика планарий <i>Girardia tigrina</i>	5
1.2 Регенерация планарий	9
1.2.1 Стволовые клетки планарий-необласты	12
1.3 Ксимедон	16
II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	19
2.1 Объекты исследования	19
2.2 Метод вычисления митотического индекса	20
2.3 Метод прижизненной компьютерной морфометрии	21
III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	26
3.1 Влияние препаратов на морфогенез планарий	26
3.2 Изучение митотического индекса в первые сутки после операции декапитации	32
ВЫВОДЫ	35
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	36
ПРИЛОЖЕНИЕ	42

## ВВЕДЕНИЕ

Препараты пиримидинового ряда обладают широким спектром действия, они имеют противовоспалительную и противовирусную активность, стимулируют клеточные и гуморальные факторы иммунитета, играют роль в лейкопозе и эритропозе, оказывают анаболическое действие. Их значимость в медицине велика.

В клинической практике при лечении ожогов, послеоперационных ран, псориазе, болезнях пищеварительной системы, гнойно-воспалительных заболеваниях используется препарат «Ксимедон», производное пиримидина. В основном он направлен на улучшение процесса восстановления тканей. В настоящее время ведётся модификация данного препарата методом удвоения молекулы действующего вещества для ускорения регенерации тканей и органов. В Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова (г. Казань) было разработано новое вещество «Н25» или «Ксимедон 2», молекула которого состоит из 2 пиримидиновых оснований.

В качестве модели для изучения свойств нового препарата были использованы плоские черви-планарии. Они уникальны для лабораторных исследований в области регенерации, так как имеют достаточно простое строение тела и способность к восстановлению даже из 1/300 части тела. Модель регенерации планарий обладает высокой чувствительностью к биологически активным веществам, что даёт возможность использования данной модели для первичного скрининга фармакологических препаратов в короткие сроки, начиная с 3-го дня регенерации.

Таким образом, целью нашей работы является исследование воздействия нового препарата пиримидинового ряда Н25 - «сдвоенной» молекулы «Ксимедона» ( $\alpha, \omega$ -бис[(1-(2-карбоксиитил)-2-оксо-4,6-диметилпиримидинил]алкиленов) на регенерацию планарий *Girardia tigrina* (*Girard, 1850*).



Исходя из цели, были поставлены следующие задачи:

- 1) Изучить влияние препарата «Н25» на скорость отрастания бластемы у планарий *Girardia tigrina* методом прижизненной компьютерной морфометрии.
- 2) Исследовать влияние препарата «Н25» на пролиферацию необластов планарий.
- 3) Провести анализ влияния различных концентраций препарата «Н25» на скорость морфогенеза планарий.
- 4) Сравнить эффективность использования препарата «Н25» со стандартным препаратом «Ксимедон».

## ВЫВОДЫ

- Проведено исследование пролиферативной активности нового препарата пиримидинового ряда «Н25», на пролиферацию бластымы планарий *Girardia tigrina*. Препарат «Н25» является сдвоенной молекулой препарата «Ксимедон». В качестве вещества сравнения в работе использовался препарат «Ксимедон».
- Выявлено, что препарат «Ксимедон» в концентрации  $10^{-7}\text{M}$  стимулирует отрастание бластымы планарий. Данный препарат является доказанным активатором пролиферации бластымы у планарий.
- Методом подсчёта митотического индекса в суспензии клеток планарии *Girardia tigrina*, выявлено, что концентрация препарата «Ксимедон»  $10^{-7}\text{M}$  увеличивает количество митотирующих клеток. Препарат «Н25» в концентрации  $10^{-9}\text{M}$  замедляет темпы митоза клеток планарий.
- Методом прижизненной компьютерной морфометрии, определено, что препарат «Н25» в концентрациях  $10^{-9}\text{M}$ ,  $10^{-11}\text{M}$ ,  $10^{-13}\text{M}$  оказывает ингибирующее воздействие, замедляет регенерацию планарий.
- Показано, что «Ксимедон» в концентрации  $10^{-9}\text{M}$  и «Н25» в концентрации  $10^{-7}\text{M}$  никакого эффекта не оказывают.