

*МИНОБРНАУКИ РОССИИ*  
*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение*  
*высшего образования*  
*«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»*

*ЦКП «ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ»*

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ,  
НАНОТЕХНОЛОГИЙ И МЕДИЦИНЫ:**

*VI Международная научно-практическая конференция,  
г. Ростов-на-Дону, 1–3 октября 2015 г.*

Ростов-на-Дону  
Издательство Южного федерального университета  
2015

УДК 577  
ББК 28  
А 43

**Главный редактор:**

доктор биологических наук, профессор *Т.П. Шкурат*  
доктор технических наук, профессор *А.Е. Панич*

**Редакционная коллегия:**

кандидат биологических наук, профессор *Е.К. Айдаркин*  
доктор биологических наук, профессор *М.М. Асланян*  
доктор биологических наук, профессор *В.В. Внуков*  
доктор биологических наук, профессор *С.И. Колесников*  
доктор биологических наук, профессор *А.В. Усатов*  
доктор медицинских наук, профессор *А.В. Шестопапов*  
доктор биологических наук, профессор *Э.З. Эмирбеков*  
доктор технических наук, профессор *Б.Я. Штейнберг*  
доктор медицинских наук *С.С. Амелина*  
доктор биологических наук *А.М. Ермаков*  
доктор биологических наук *Е.В. Машкина*  
доктор биологических наук *В.А. Чистяков*  
кандидат биологических наук *А.А. Александрова*

**А43 Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Материалы VI Междунар. науч.-практ. конф.;** Южный федеральный университет. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2015. – 312 с.

ISBN 978-5-9275-1664-3

Настоящий сборник включает в себя труды более чем тысячи авторов всех регионов России, а также ведущих ученых Белоруссии, Украины, Армении, Казахстана, Германии, США. В нем представлены результаты исследований по молекулярной и регенеративной биомедицине, геномным и клеточным технологиям, биоинформатике и биобезопасности, экспериментальной биологии, ветеринарной медицине, медицинскому приборостроению и нанотехнологиям.

© Южный федеральный университет, 2015

## ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

---

### ПРИОНЫ И АМИЛОИДЫ: МАТРИЦЫ ВТОРОГО РОДА

*С.Г. Инге-Вечтомов<sup>1,2</sup>, А.П. Галкин<sup>1,2</sup>, А.А. Нижников<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, 199034, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН 199034, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

E-mail: ingevechtomov@gmail.com

Матричный принцип, предложенный Н.К. Кольцовым в 1928 г. для воспроизведения хромосом, в дальнейшем (1958, 1970) был расширен Ф. Криком в его Центральной Догме Молекулярной Биологии, охватив процессы воспроизведения генетического материала (репликация) и экспрессии генетической информации (транскрипция, трансляция). Эти процессы копирования линейных матриц (матричные процессы I рода) были дополнены в конце XX в. матричными процессами II рода, лежащими в основе воспроизведения пространственной структуры белков-прионов (Прусинер, Нобелевская премия 1997 г.). В последнем случае мы имеем дело с конформационными, или пространственными, матрицами, когда измененную конформацию, но не первичную структуру, белковые молекулы передают гомологичным или гетерологичным полипептидам. Этот механизм лежит в основе явления белковой наследственности у дрожжей-сахаромицетов. К этому же механизму сводится образование амилоидов, частный случай которых представляют собой прионы – инфекционные амилоиды.

Традиционные методы выявления и идентификации амилоидов, основанные на применении специфических красителей и энзиматической обработке препаратов, были дополнены в последнее время методом «протеомного скрининга амилоидов», разработанного нами совместно с лабораторией М.Д. Тер-Аванесяна. Метод позволяет выявлять у любых организмов, как спорадически возникающие, так и конститутивные амилоиды.

Становится все более очевидным, что матричные процессы I и II рода взаимосвязаны. Так, например, из десятка прионов грибов, известных сегодня, – пять представляют собой факторы транскрипции и один – фактор трансляции. Специфичное влияние на транскрипцию показано для мутантного варианта хантингтина – амилоида, обуславливающего болезнь Хантингтона.

Кроме общетеоретического значения рассматриваемая проблема важна в связи с тем, что у человека известно несколько десятков неизлечимых амилоидозов, среди которых такие нейродегенеративные заболевания, как болезни Альцгеймера, Хантингтона, Паркинсона, Кройцфельда-Якоба и др.

---

### ANALYSIS OF MEAN TELOMERE LENGTH USING WHOLE-GENOME SEQUENCING DATA

*Arsen Arakelyan, Lilit Nersisyan, Anna Hakobyan*

*Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences of Armenia (Yerevan, Armenia), 7 Hasratyan St., Yerevan, Armenia, 0014*

*E-mail: arakelyan@sci.am*

Telomeres are repetitive stretches of DNA that cap the ends of chromosomes. In humans telomeres comprise of (TTAGGG)<sub>n</sub> tandem repeats and vary between 5 and 15 kb in length. Each cell division results in shortening of telomeric sequences due to the end replication problem, and it has been

---

calculated that in humans the annual loss of telomere length ranges between 20–60 bp. Dereglulation of telomere length homeostasis is associated with development of various age-related diseases and cancers. A number of experimental techniques exist for telomere length measurement; however, until recently, the absence of tools for extracting telomere lengths from high-throughput sequencing data has significantly obscured the association of telomere length with molecular processes in normal and diseased conditions. We have developed Computel, a program in R for computing mean telomere length (MTL) from whole-genome next-generation sequencing data (WGS). Computel is open source, and is freely available at <https://github.com/lilit-nersisyan/computel>. It utilizes a short-read alignment-based approach and integrates various popular tools for sequencing data analysis. We validated it with synthetic and experimental data, and compared its performance with previously available software. The results have shown that Computel outperforms existing software in accuracy, independence of results from sequencing conditions, stability against inherent sequencing errors, and better ability to distinguish pure telomeric sequences from interstitial telomeric repeats.

Next, we used Computel for a pilot genome wide association (GWA) study for MTL in South Asian population using publicly WGS data. Our results showed that MTL in South Asian population did not significantly correlate with age ( $r=-0.048$ ,  $n = 168$ ,  $p = 0.53$ ), which is concordant with previously published results. Further, we identified that individuals with Sikh religion had longer telomeres significantly longer MTLs compared to the rest of the samples ( $5891 \pm 1343\text{bp}$  vs.  $5187 \pm 992\text{bp}$ ,  $p = 0.0023$ ), which may imply a population-specific feature or a lifestyle-related advantage. Finally, we have identified 52 SNPs associated with MTL at  $p < 2.43e-6$  (FDR-BH corrected  $p < 0.25$ ) located in 4 genes (ADARB2, PDLIM7, SEMA6B, PHACTR2). Additionally, one associated SNP ( $p=3.94e-7$ ) was detected within 2 overlapping genes (TMEM74B and PSMF) and 7 SNPs in intergenic regions. The ADARB2 gene was carrying 38 most significant SNPs among which were rs1007147 ( $p=3.354e-08$ ) and rs10903420 ( $p=5.457e-08$ ). Earlier studies conducted for different human populations have strongly implicated these SNPs in association with extreme old age. The next SNP with highest p-value (rs163203,  $p=2.007e-06$ ) was residing in PDLIM7. Its protein interacts with telomeric transcripts (TERRA), and it has been shown, that downregulation of TERRA binding proteins can impact on telomere lengthening.

In conclusion, our study suggests, that the age association with mean telomere length might be population specific. Additionally, we introduce new loci implicated in MTL that may be worth to be considered in further telomere studies. Finally, by providing highly reliable methodology for determining telomere lengths from whole-genome sequencing data, Computel should help to elucidate the role of telomeres in cellular health and disease.

---

## ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕНЕЗА МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЦИТОГЕНЕТИКИ

***Р.М. Арутюнян, Т.А. Арутюнян, А.Э. Симонян, Г.Г. Оганесян***

*Ереванский государственный университет, кафедра генетики и цитологии биологического факультета, 0025, Армения, г. Ереван, ул. А. Манукяна, 1  
E-mail: [genetik@ysu.am](mailto:genetik@ysu.am)*

Методы молекулярной цитогенетики, позволяющие определять конкретные мишени действия мутагенов в геноме, значительно расширили возможности изучения механизмов мутагенеза. Применение флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) в сочетании с методами ДНК-комет и микроядер позволили оценить повреждения ДНК и хромосом на уровне отдельных локусов генома и даже генов. Таким образом, удалось существенно поднять уровень информативности биомаркеров генотоксических эффектов.

**Методом гибридизации теломерных ДНК-зондов на основе пептидо-нуклеиновой кислоты на препаратах комет** нами проанализированы эффекты действия цитостатиков (митомидин С, блеомицин и цисплатин) на нормальные и опухолевые клетки. Подтверждена информативность примененного подхода для оценки чувствительности клеток к лекарственным препаратам при скрининге потенциальных противоопухолевых соединений, которые избирательно дестабилизируют теломерные повторы.

**На основе гибридизации центромерных и цельнохромосомных ДНК-зондов на микроядрах** показан неслучайный характер распределения повреждений по хромосомам при действии митомидина С. Не выявлена зависимость распределения повреждений хромосом от их локализации в ядре, размера и плотности генов. Степень конденсации хроматина рассматривается как наиболее вероятный фактор, определяющий характер распределения повреждений в геноме.

**С применением гибридизации ДНК-зондов на хромосомах** впервые показано влияние афлатоксина В1 на вариации числа повторов ДНК (CNV) в лейкоцитах периферической крови человека *in vitro*. Размеры локусов CNV и их изменения определялись на основе интенсивности свечения флуоресцентных ДНК-проб, комплементарных исследуемым участкам. Обнаружено статистически достоверное снижение числа повторов ДНК в вариантах, обработанных афлатоксином В1.

Методы молекулярной цитогенетики внедряются и в токсикометиломику, позволяющую оценивать эпигенетические эффекты факторов окружающей среды, в частности, на глобальное метилирование ДНК. На основе модифицированной версии метода ДНК-комет в комбинации с рестрикционными ферментами определен уровень глобального метилирования ДНК при действии афлатоксина В1.

Метод комет применяется нами и в экогенотоксикологических исследованиях. Проведена сравнительная оценка уровней повреждений ДНК в эритроцитах карасей (*Carassius auratus gibelio*) и гемоцитах речных раков (*Astacus leptodactylus*), обитающих в четырех различных участках бассейна озера Севан. Выявлена корреляция между уровнями генотоксичности и загрязненности исследованных образцов воды.

Разработанные нами методические подходы могут быть рекомендованы как для изучения механизмов мутагенеза, так и для применения в генетической токсикологии.

---

## СПОРНЫЕ ВОПРОСЫ И ДИСКУССИИ В ГЕНЕТИКЕ

**М.М. Асланян**

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12  
E-mail: marlen32@mail.ru*

Генетика – интегрирующая биологическая дисциплина, изучающая два функциональных свойства живого: наследственность и изменчивость. Интегрирующая роль генетики заключается в том, что она исследует универсальные свойства на всех уровнях организации живого – молекулярном, клеточном, организационном, популяционном и на всех таксономических группах организмов, включая человека.

Основоположником научной генетики является Г. Мендель, который сформулировал и обосновал идею о существовании дискретных наследственных факторов, ввел понятие об альтернативных наследственных факторах и признаках (принцип аллелизма). Мендель доказал, что наследственные факторы (гены), объединяясь в зиготе, не смешиваются и не сливаются (позже это явление стало называться законом чистоты гамет). После переоткрытия законов Г. Менделя в 1900 году, научной школой Т.Г. Моргана на основе экспериментальных данных была разрабо-

тана хромосомная теория наследственности. Основопологающим моментом при создании теории явилось доказательство существования материальных структур – хромосом – в ядре клетки, ответственных за хранение и передачу наследственной информации от клетки к клетке, от родителей к потомству. Это подтверждалось поведением хромосом в митозе и мейозе, экспериментами по наследованию признаков, сцепленных с полом, хромосомным механизмом определения пола, цитогенетическим доказательством кроссинговера и др.

Наиболее острые дискуссии в генетике возникали по проблемам мутагенеза, изменчивости гена и философским вопросам биологии [1–8]. Факты константного наследования признаков на протяжении многих поколений воспринимались генетиками до 30-х годов прошлого века как проявление высокой консервативности генов и изолированности от обмена веществ в клетке. С другой стороны, абсолютизировался принцип случайности при возникновении мутаций. У Т.Д. Лысенко было особое понимание «причинности и стохастичности» биологических процессов. Результат причинно-следственных отношений он оценивал лишь как направленный и адекватный воздействию фактору. По Т.Д. Лысенко «Все, так называемые, законы менделизма – морганизма построены исключительно на идее случайности. Генные» мутации возникают, согласно теории менделизма-морганизма, случайно. Хромосомные мутации также появляются случайно. Направление мутационного процесса вследствие этого также случайно. Исходя из этих вымышленных случайностей, морганисты строят свои эксперименты на случайном подборе веществ, полагая, что этим они воздействуют на вымышленное ими наследственное вещество, и надеются случайно получить то, что случайно может пригодиться» [6].

Мне хотелось бы обратить внимание на один парадоксальный случай. Речь идет об экспериментальной работе, доказавшей генетическую роль дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), опубликованной в 1944 году. В западных странах и в Советском Союзе ни классические генетики, ни биохимики не оценили это открытие как эру рождения молекулярной генетики. Лишь в 1953 году после создания Дж. Уотсоном [9] и Ф. Криком [10] структурной модели ДНК (двойная спираль) этот биополимер был признан носителем наследственной информации. Т.Д. Лысенко первым обратил внимание на статью О.Т. Эйвери и других сотрудников Рокфеллеровского института экспериментальной медицины (Принстон, Нью-Йорк) и опубликовал перевод этой статьи в редактируемом им журнале «Агробиология», 1946, № 3 [11]. По мнению Т.Д. Лысенко, эти экспериментальные данные подтверждали его основную идею о природе наследственности и изменчивости, а именно, что «внешние условия (факторы), воздействуя на организм, изменяют наследственность адекватно (соответственно) своей природе. О. Эйвери с сотрудниками в точности повторили опыты Ф. Гриффитса 1928 года по генетической трансформации на пневмококках *Streptococcus pneumoniae*. В эксперименте использовались два штамма пневмококков, различающихся по характеру роста на плотных средах и по свойству патогенности по отношению к подопытным мышам: 1) образующая капсулу, патогенная – III S и 2) безкапсульная, непатогенная – II R.

Принципиальное отличие экспериментов Эйвери заключалось в том, что трансформирующим агентом являлись не «убитые клетки», а лишь высокоочищенная ДНК, выделенная из этих клеток. Если в опыте мышам вводили ДНК из убитых нагреванием клеток патогенного штамма III S и одновременно живые клетки II R, то мыши погибали, а из их трупов выделялись живые клетки пневмококков III S и они приобретали способность стойко передавать это свойство при дальнейшем размножении. Добавление фермента ДНКазы – фермента специфически разрушающего ДНК, – препятствовало трансформации. По логике Лысенко, ДНК (III S) – химическое вещество, кислота при воздействии на «живое тело» авирулентного штамма пневмококка – II R изменяла его адекватно (направленно) своей природе и превращала в вирулентный штамм – III S. Трансформирующий фактор, изменяющий адекватно своей природе наследственность обработанного пневмококка, оказался «веществом наследственности», существование которого полностью отрицалось

Никакие другие биологические макромолекулы (белки, жирные кислоты, углеводы и др.) не способны трансформировать наследственность живых клеток адекватно своей природе. Лишь

в молекулах нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) закодирована генетическая информация о признаках и свойствах живых организмов, это и есть – дискретные единицы наследственности – гены. Вместе со статьей О. Эйвери «Исследование химической природы вещества, вызывающего превращение одного типа пневмококков в другой» в том же журнале (Агробиология, 1946, № 3) представлены статьи академика Н.Ф. Гамалея «К вопросу об изменчивости микробов» и его сотрудницы Н.П. Гончаровой «Направленная изменчивость кишечной бактерии».

В середине 50-х годов в ряде научных журналов стали появляться публикации видных ученых биологов, химиков, математиков (Н.П. Дубинин, Н.Н. Семенов, А.Н. Несмеянов и др.) с критикой «лысенкоизма» и в защиту научной генетики. Уже в 1957 г. Н.П. Дубинин писал: «Наследственность, как и все другие явления жизни, имеет материальную природу. В явлениях жизни нет ничего, кроме взаимодействующих молекул и атомов с их ядрами и электронами. Это показывает, насколько велика роль физических, химических и математических методов исследования для биологии в целом и для проблемы наследственности в частности. Только путем применения этих методов можно исследовать все те простые формы движения, в том числе и квантово-механические, которые лежат в основе той особой формы движения материи, которая именуется жизнью» [12]. Но редакция журнала, хотя и опубликовала статью, но этот ключевой по смыслу абзац вычеркнула.

В 1959 году на расширенном заседании президиума АН СССР возникла дискуссия между академиком Н.Н. Семеновым и Т.Д. Лысенко по вопросам взаимодействия и соотношения химии и биологии. Н.Н. Семенов в своем выступлении говорил, что «некоторые ученые, говоря очень много о необходимости использования химии и физики в познании биологических процессов и отмечая даже некоторое отставание в этом вопросе, вместе с тем полагают, что физико-химические методы неприемлемы для понимания тех областей, которые затрагивают основы биологии, например механизма наследственности» [13]. На это Т.Д. Лысенко резко возражал: «...Искать же химикам и физикам в живом теле какие-то специфические химические вещества наследственности бесполезно. Такого вещества не существует и не может существовать. Вещество наследственности – это миф, выдуманный метафизикой, или это дух, отдельный от тела, выдуманный идеалистами». В этой полемике принимали участие академики Н.П. Дубинин, В.А. Энгельгардт, отстаивающие физико-химическую природу гена, а также сторонники мичуринской биологии, например Н.И. Фейгинсон [14].

В 1960 году президент АН СССР А.Н. Несмеянов писал: «Наука послевоенного времени выяснила, что клетки в синтезе по крайней мере основного класса высокомолекулярных соединений живых организмов – белков используют **штампы**. Ими являются молекулы нуклеиновых кислот... Эти штампы при делении клеток самовоспроизводятся... При зарождении же клетки нового организма слиянием отцовской и материнской клеток осуществляется набор штампов на равных основаниях с обеих сторон, почему синтез идет с использованием отцовских и материнских штампов. Отсюда и явления наследственности... Штамп – нуклеиновая кислота – содержит код строения белка, который посредством этого кода синтезируется».

Т.Д. Лысенко возражает так: «в этой цитате утверждается, будто живое тело, как его именуют в биологической науке, – сома не обладает свойствами наследственности. Наследственностью якобы обладает только какое-то отдельное от тела, но в нем находящееся специфическое вещество. Этим веществом в данном случае являются якобы нуклеиновые кислоты, названные “штампами”. Эти штампы при делении клеток самовоспроизводятся. А все другое в живом теле будто бы не подвержено законам самодвижения, самовоспроизведения, оно только штампуется. Такое ненаучное, не соответствующее действительности положение давно отвергнуто мичуринской биологией на основе экспериментальных фактов и сельскохозяйственной практики. В нашей материалистической биологии давно уже доказано, что наследственность – это не какое-то специфическое вещество, находящееся в живом теле. Наследственность – свойство самого живого тела. Заключается это свойство в том, что живое тело тяготеет, стремится, требует для своей жизни, для своего развития определенных условий внешней среды, требует именно тех условий и той среды, из которой оно впервые в прошлых поколениях возникло» [15].

В книге Н.И. Фейгинсона подчеркивается, что «наследственность – свойство только живого. Поэтому для нее характерны специфические биологические законы, не сводимые к законам физики химии. Например, закон изменения наследственности адекватно воздействию изменяющих условий – это биологический закон» [14].

Сторонники наследования благоприобретенных свойств (Т.Д. Лысенко и др.) считали, что любые изменения условий жизни адекватно изменяют свойства организма и передаются по наследству.

Наследственность как свойство организмов передавать константное проявление признаков в ряду поколений осуществляется в ходе реализации трех важных процессов:

- хранение генетической информации в закодированном виде в геноме клеток организма;
- репликация генетического материала при делении клеток путем мейотического или митотического деления;
- реализация генетической информации, заключенной в конкретные признаки и свойства (фенотип) организма.

Ошибка Лысенко заключалась в том, что он отвергал 1-ю и 2-ю ипостаси наследственности, а рассматривал лишь этап реализации и функционирования клеток. Формулировка «Наследственность есть свойство живого тела требовать определенных условий для своей жизни, для своего развития и определенно реагировать на те или иные условия» не противоречит основным понятиям корпускулярной генетики. А вот следующее утверждение, что «Мичуринское учение не признает существования в организме особого от тела организма наследственного вещества» противоречит всему ходу развития биологии во второй половине XX века, триумфу идеи дискретности наследственности, существования материальных структур наследственности – генов, представленных в живых клетках в виде молекул ДНК и РНК.

Открытие в 1927 году Г. Мёллером мутационного действия рентгеновских лучей и выяснение механизмов спонтанных и индуцированных мутаций утвердило представление о причинности и статистичности мутационных событий. Но еще долгое время оставалось непонятным, как «ген» в горниле активного обмена веществ сохраняет высокую константность. Открытие универсальной системы восстановления генетических повреждений ДНК (генетическая репарация) вскрыло суть этого непонятого феномена. ДНК и хромосомы в клетке участвуют во всех физико-химических реакциях, подвергаются воздействию физических и химических агентов (УФ-лучи, X-лучи, температура, ферменты и др.), в результате чего возникают генетические повреждения. Если бы все эти повреждения нарушили структуру генов, то ни о какой передаче константных признаков, а, следовательно, и об эволюции органического мира не могло быть и речи. В ходе эволюции у организмов выработалась система слежения за сохранением генетической информации, и в случае возникновения структурных нарушений в ДНК соответствующие ферменты репарации восстанавливают нативную структуру (по принципу матричного синтеза). Часть неисправленных повреждений реализуется в мутации. Если у нормальных организмов (дрожжи, дрожофила, человек) частота спонтанных мутаций на один ген \ на поколение составляет  $10^{-6}$  степени, то в репарационно-дефектных линиях она выше на 1–2 порядка ( $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ).

Бурное развитие генетики в XX веке, открытие материальных структур наследственности нуклеиновых кислот, расшифровка генетического кода, выделение индивидуальных генов и разработка генно-инженерных технологий увенчалась расшифровкой генома человека и сотен видов других организмов. Исследования по функциональной геномике позволяют понять роль определенных специфических последовательностей ДНК и РНК в регуляции действия генов, построить генные сети, участвующие в формировании сложных мультифакториальных признаков, выяснить механизмы репрограммирования генома на разных стадиях индивидуального развития. В настоящее время «функциональная геномика» служит теоретической и методической основой эпигенетических исследований.

«Термин **эпигенетика** был предложен в 1940 г. Конрадом Уоддингтоном как производное от слова “Эпигенез”. Он использовал его для обозначения модели того, как гены могут взаимодействовать со своим окружением при формировании фенотипа». Современное представле-



ние этого слова является более узким, префикс «эпи» с греческого языка может переводиться как «на», «над», «сверх», «после». В последние годы опубликовано ряд добротных монографий по эпигенетике, среди которых я бы выделил две коллективные [16, 17].

Здесь приведены выдержки из предисловия отечественного издания в связи с тем, что в последние годы привлечено внимание к проблеме «наследования приобретаемых свойств» организмами под влиянием факторов среды, и современная эпигенетика это подтверждает. «К эпигенетическим факторам относят только те факторы, которые и действуют дополнительно или помимо генетических молекулярных факторов». «Молекулярная основа эпигенетики – модификация активности генов, не затрагивающая базовую структуру ДНК. Основные эпигенетические механизмы регуляции активности генов – метилирование ДНК, ацетилирование гистонов, некодирующая РНК, ремоделирование хроматина. Особенностью эпигенетических изменений является то, что они сохраняются при клеточном делении. Известно, что большинство эпигенетических изменений проявляются только в пределах жизни одного организма. Некоторые эпигенетические проявления могут передаваться от одного поколения к другому. Это свидетельствует о возможности наследования приобретаемых признаков, что до последнего времени считалось абсолютно невозможным. Разница между генетическими и эпигенетическими механизмами наследования – в их стабильности воспроизводимости эффектов». В книге Э. Стила и др. выдвигается гипотеза соматического отбора, по которой соматические мутации переменных генов иммуноглобулинового локуса могут встраиваться в гаметы и передаваться по наследству [18].

В 30-е годы сторонники классической генетики остро критиковали Т.Д. Лысенко и «мичуринскую биологию» за приверженность к «наследованию приобретаемых свойств, а заодно и «вегетативную гибридизацию». Т.Д. Лысенко клеймил «генетиков» за приверженность к дискретным наследственным факторам – генам, приклеивал идеологические ярлыки типа «меньшевиствующий идеализм», «механистический материализм» и др. Генетика как наука в ходе своего развития и совершенствования методов исследования развивалась как передовая отрасль биологической науки. Познание молекулярной структуры гена и генома в целом полностью подтвердило идею дискретных единиц наследственности, которую полностью отрицали сторонники Т.Д. Лысенко.

В статье С.Г. Инге-Вечтомова достаточно полно и убедительно показана преемственность развития генетики на основе «матричного принципа», предложенного основоположником отечественной генетики Н.К. Кольцовом [19]. Некоторые положения классической генетики подверглись пересмотру на основе современных экспериментальных данных (горизонтальный перенос генетической информации; генетическая нестабильность генома, связанная с мобильными элементами, прионная наследственность). Эти проблемы детально рассмотрены в книге М.Д. Голубовского [20]. В связи с этим появились публикации, оправдывающие разгром генетики как науки в середине XX века, героизирующие роль Т.Д. Лысенко в биологии и развитии сельского хозяйства в СССР, хотя ясно, что под видом научной дискуссии – августовская сессия ВАСХНИЛ 1948 года, была проведена политическая, идеологическая акция, задержавшая развитие биологической науки и образования на два десятилетия. Эта акция была продолжением «борьбы с космополитизмом». В приказе министра высшего образования СССР по итогам августовской сессии ВАСХНИЛ писалось: «Необходимо всемерно разъяснять студентам, что борьба мичуринской биологической науки против вейсманистского направления в биологии есть борьба двух прямо противоположных и непримиримых мировоззрений, борьба диалектического материализма против идеализма».

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов Н.И. Пути советской селекции. Сб. Спорные вопросы генетики и селекции. Работы сессии ВАСХНИЛ. М.–Л.: Изд-во ВАСХНИЛ, 1937. 479 с.
2. Вавилов Н.И. Этюды по истории генетик. М.: Новый хронограф, 2012. 160 с.
3. Серебовский А.С. Генетика и животноводство. Сб. Спорные вопросы генетики и селекции. Работы сессии ВАСХНИЛ. М.–Л.: Изд-во ВАСХНИЛ, 1937. 479 с.
4. Меллер Г. Современное состояние экспериментальных данных о природе гена. Сб. Спорные вопросы генетики и селекции. Работы сессии ВАСХНИЛ. М.–Л.: Изд-во ВАСХНИЛ, 1937. 479 с.

5. Лысенко Т.Д. За дарвинизм в агробιοлогической науке. Сб. Спорные вопросы генетики и селекции. Работы сессии ВАСХНИЛ. М.–Л.: Изд-во ВАСХНИЛ, 1937. 479 с.
  6. Лысенко Т.Д. О положении в биологической науке. Стенографический отчет сессии Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук имени В.И. Ленина (31 июля – 7 августа 1948 г.). М.: Огиз–Сельхозгиз, 1948. 534 с.
  7. Фролов И.Т. Философия и история генетики: Поиски дискуссии. Изд. 2-е. М.: КомКнига, 2007. 424 с.
  8. Свердлов Е.Д. Взгляд на жизнь через окно генома: в 3 т. Курс лекций. Т. 1: Очерки структурной молекулярной генетики / Ин-т мол. генетики РАН. М.: Наука, 2009. 525 с.
  9. Уотсон Дж. Двойная спираль. Воспоминания об открытии структуры ДНК. М.: Мир, 1969. 152 с.
  10. Крик Ф. Безумный поиск: личный взгляд на научное открытие. М.–Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2003. 192 с.
  11. Эйвери О.Т., Мак-Лиод К. М., Мак-Карти М. Исследование химической природы вещества, вызывающего превращение одного типа пневмококков в другой // Агробиология. 1946. № 3.
  12. Дубинин Н.П. Методы химии, физики и математики в изучении проблем наследственности // Вопросы философии. 1957. № 6. С. 148–154.
  13. Семенов Н.Н. О соотношении химии и биологии // Вопросы философии. 1959. № 10. С. 95.
  14. Фейгинсон Н.И. Корпускулярная генетика. Критический обзор. М.: Сельхозиздат, 1963. 543 с.
  15. Лысенко Т.Д. К вопросу о взаимоотношениях биологии с химией и физикой // Вопросы философии. 1959. № 10. С.103.
  16. Эпигенетика / Под ред. С.М. Закияна, В.В.Власова, Е.В.Дементьевой. Новосибирск: Изд-во Сибирского отделения РАН, 2012. 592 с.
  17. Эпигенетика / Под ред. С.Д. Эллиса, Т. Дженновкина, Д. Рейнберга. М.: Техносфера, 2013. 496 с. (пер. с англ.).
  18. Стил Э., Линдли Р., Бланден Р. Что, если Ламарк прав? Иммуногенетика и эволюция: Пер. с англ. М.: Мир, 2002. 237 с.
  19. Инге-Вечтомов С.Г. От хромосомной теории к матричному принципу // Генетика. 2015. Т. 51. № 4. С. 397–408.
  20. Голубовский М.Д. Век генетики: эволюция идей и понятий. СПб.: Борей Арт, 2000. С. 262.
- 

## ПРИНЦИПЫ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ *AB INITIO*

*П.И. Белобров<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>*Институт биофизики СО РАН, 660036, Российская Федерация, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50*

<sup>2</sup>*Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, 660041, Российская Федерация, г. Красноярск, пр. Свободный, 79*

*E-mail: peter.belobrov@gmail.com*

Фундаментальная биология как точная наука накопила гигантский объем знаний, требующих новых подходов к пониманию основных биологических законов. В докладе сделан анализ главных принципов биологии клетки для физической теории живых систем.

Принципы клеточной биологии, развивающие традиционный подход [1], следующие.

Из принципа постоянного биологического беспокойства следует формула: «действие – это закон жизни». Неравенство действия и противодействия есть движущая сила развития. Отсутствие точек покоя рассмотрено на примере клеточного цикла [2], основных эпигенетических модификаций и родословной стволовых клеток [3]. Биологические взаимодействия имеют многомерную природу, которая гораздо шире комбинаторики белок-белковых сетей (interactome) и требует использования мер Хаусдорфа, описывающих размерность вместе с процессами образования и разрыва связей, изменяющих размерность.

Структура и функции клеток обеспечивают гармонию непрерывности «струны жизни» и дискретности организмов, формируя канторовы континуумы состояний клеток и тканей. Принцип биологического разнообразия поддерживает целостность живых организмов, обеспечивая непрерывность жизни в целом. Принцип созидания выражается формулой: «способность создавать и есть жизнь», который является одним из главных свойств живых клеток [4]. Биологические сигналы принципиально зависят от приемников, преобразующих полученные сигналы и раскрывающих их биологический смысл. Этот принцип рассмотрен на трех примерах: везикулы межклеточного обмена, сигнальные цепи феромонов насекомых и преобразователи генетических сигналов [5, 6].

Принцип иерархии, организации и сложности генов белков и различных РНК лежит в основе биологии клетки и активно развивается в свете новой парадигмы экспрессии.

Родословная клетки определяется принципом перемешивания клеточных линий при наследовании, когда экспрессия генетического материала реализуется ажурной сетью взаимодействия различных РНК и белков в цитоплазме и в хромосомных территориях [7].

Принцип глубокой гармонии индивидуальности и целостности рассмотрен на примерах биологических симбиозов, где согласованы врожденные иммунитеты бактерий, грибов, растений и животных. Эти представления развивались от открытия фагоцитов И.И. Мечниковым через иммунитет растений Н.И. Вавилова до современного понимания [8].

Принцип измерения клетки клеткой [9] и биологические числа [10] позволили определить биологические меры и калибровки, разработка которых начата автором доклада.

Понимание биологической информации в клеточных процессах началось с теории Колмогорова [11], следуя которой можно определить сложность как длину алгоритма, преобразующего одну клетку в другую. Соответствующая иерархия кодов и уровней организации расширяет понятие обычной энтропии, хотя начатое в работе [11] развитие условной энтропии меры по мере ещё далеко не закончено в биологии клетки [5–8].

Много тайн раскрыла теория Е.В. Кунина, в которой показано, что логика случая лежит в основе последовательности биологических событий [12], где точное понимание рождения слабой доминанты требует глубоких исследований.

В докладе предложены математические методы описания, а в трудных случаях введены необходимые условия для развития биологической математики (biomathic), где нет аксиом, так как биология клетки не является формализуемой наукой.

Предложенные принципы – основа клеточной родословной, записанной в молекулярной книге клетки (CellBook), которая читается самой клеткой и перезаписывается при каждом клеточном делении [2]. Фундаментальная биология точна по биологическим мерам, многие из которых лишь интуитивные, хотя позволяют создавать молекулярные устройства, использующие принципы биологии клетки *ab initio*.

Благодарю Л.И. Патрушева, А.Г. Малыгина и Н.В. Пашенову за обсуждения основной идеи и полезные критические замечания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Plopper G. Principles of Cell Biology. Second edition. Navigate 2 Advantage Accrss, 2016. 566 p.
2. Shapiro J.A. How life changes itself: The Read–Write genome // Phys. Life Rev. 2013. Vol. 10. Issue 3. P. 287–323.
3. Эпигенетика / Под ред. С.М. Закияна, В.В. Власова, Е.В. Дементьевой. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 592 с.
4. Zewail A.H. 4D Visualization of Matter: recent collected works. Imperial College Press, 2014. 428 с.
5. Noble D. The Music of Life. Biology beyond the Genome. Oxford Univ. Press, 2006. 153 p.
6. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. М.: Наука, 2000. 830 с.
7. Разин С.В., Быстрицкий А.А. Хроматин: упакованный геном. БИНОМ. Лаборатория знаний, 3-е изд. 2014. 172 с.

8. Фундаментальная фитопатология / Под ред. Ю.Т. Дьякова. М.: Красанд, 2012. 512 с.
9. Либерман Е.А. Живая клетка. М.: Наука, 1982. 160 с.
10. Phillips R., Kondev J., Theriot J., Garcia H. Physical Biology of the Cell. 2 nd ed. Garland Science, 2013. 1089 p.
11. Колмогоров, А.Н. Три подхода к определению понятия «количество информации» // Проблемы передачи информации. 1965. Вып. 1. С. 3–11.
12. Кунин Е.В. Логика случая. О природе и происхождении биологической эволюции. М.: Центрполиграф, 2014. 528 с.

*Работа выполнена за счет средств государственного задания на проведение фундаментальных исследований РАН (проект № 01201351504) и за счет средств гранта Российского научного фонда (проект № 15–19–10041).*

---

## **РОЛЬ СЕРОТОНИНА И НЕЙРОПЕПТИДА FMRFамида В ФОРМИРОВАНИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ**

*Л.Н. Гринкевич*

*ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Наб. Макарова 6  
E-mail: Larisa\_Gr\_spb@mail.ru*

Одной из сложнейших задач фундаментальной нейробиологии является выяснение роли эпигенетических (над-генетических) механизмов формирования долговременной памяти и поиск путей ее улучшения. Важнейшую роль в эпигенетической регуляции играет модификация гистонов, приводящая к изменению экспрессии генов, вовлекаемых в пластические процессы. В настоящее время наиболее интенсивно изучается ацетилирование и метилирование гистонов так как показана принципиальная возможность через воздействие на эти процессы влиять на ментальные характеристики, нарушенные в ряде патологий. Важнейшую роль в данных исследованиях сыграли животные с простыми нервными системами, в частности моллюски.

В качестве модели долговременной памяти мы используем выработку рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix*. Было показано, что в формирование данного вида долговременной памяти вовлекается как ацетилирование, так и метилирование гистона H3, причем метилирование индуцируется как по активаторному, так и ингибиторному, сайтам. Предположено, что данные эпигенетические модификации находятся под контролем как активаторных, так и тормозных путей, вовлеченных в формирование долговременной памяти. Следует отметить, что нарушение процессов торможения, связанных с дисфункцией метилирования является одной из причин шизофрении. В настоящее время эти исследования проводятся в ведущих лабораториях мира. Ключевым активаторным медиатором ЦНС моллюсков в формировании оборонительных рефлексов является модуляторный медиатор серотонин, который опосредует действие ноцицептивных стимулов, а тормозным – нейропептид FMRFамид (Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>). Инкубация ЦНС с этими веществами моделирует не ассоциативные процессы (сенситизацию и привыкание соответственно), которые вовлечены в формирование долговременной памяти. FMRFамид-подобные пептиды широко представлены и у позвоночных животных. Они играют важную роль в развитии нервной системы, вовлечены в регуляцию пищевого поведения и боли. Показано, что химерные конструкции, включающие опиоиды и FMRFамид-подобные пептиды способны подавлять боль без развития эффектов привыкания и более того, могут подавлять апоптоз

нервных клеток вызываемый длительным применением опиоидов, что предполагает большой терапевтический потенциал этих конструкций. Однако молекулярные механизмы действия FMRFамидов остаются в значительной мере не выясненными. Проведенные нами исследования показали что введение FMRFамида в концентрации (1мкг/грамм веса) улучшает формирование долговременной памяти у *Helix*, через усиление избегательного поведения. Учитывая вышесказанное нами были проведены сравнительные исследования по влиянию серотонина и FMRFамида на процессы метилирования гистона H3 в функционально различных ганглиях ЦНС *Helix*. Показано, что серотонин и FMRFамид оказывают реципрокный эффект на метилирование гистона H3 в подглоточном комплексе ганглиев ЦНС *Helix*, специализирующемся на оборонительном поведении. Так инкубация ЦНС *Helix* серотонином индуцирует метилирование гистона H3 по активаторным (H3k4me3) и ингибиторным (H3k9me2) сайтам, тогда как инкубация с FMRF-амидом снижает метилирование по обоим сайтам. При совместном действии этих веществ наблюдается подавление FMRFамидом метилирования индуцируемого серотонином. Способность FMRFамида оказывать противоположный серотонину эффект на метилирование гистона H3 может отражать роль FMRFамида в целостном поведении животного, а именно в торможении стимулов, утративших значимость. Учитывая данные о том, что FMRF-амиды способны предотвращать клеточную гибель участие этих пептидов в формировании рефлексов, связанных с применением болевых стимулов представляется необычайно важным. Таким образом изучение влияния FMRF-амидов на эпигенетические процессы представляет широкий интерес не только в связи с формированием долговременной памяти, но и в целом с функционированием ЦНС.

Полученные данные свидетельствуют о том, что активаторные и ингибиторные процессы, опосредуемые серотонином и FMRFамидом, могут взаимодействовать на эпигенетическом уровне, через метилирование гистона H3 активируя или ингибируя метилирование соответственно, что может лежать в основе конвергенции активаторных и тормозных путей, вовлекаемых в формирование долговременной памяти с дальнейшей регуляцией экспрессии генов, вовлекаемых в пластические перестройки. Путем воздействия на тормозные процессы через введение FMRFамида возможно влиять на формирование долговременной памяти с целью ее улучшения.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01681*

---

## **МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В ОБОСНОВАНИИ ПРОЦЕССА СТИМУЛЯЦИИ МИТОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН АППАРАТНЫМ МЕТОДОМ**

**М.М. Есиркепов, Б.Д. Сексенбаев, Б.К. Нурмашев, А.А. Бурабаев**

*Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия, 160000, Республика Казахстан, г. Шымкент, пл. Аль-Фараби, 1  
E-mail: marlen-forex@inbox.ru*

В травматологии и комбустиологии в последние десятилетия стали использовать давно известное проявление высокой пластичности соединительной ткани, которое заключается в ее способности увеличивать массу при растяжении.

В изучение дозированного растяжения для замещения тканей большой вклад внес профессор Г.А. Илизаров, разработавший метод компрессионно-дистракционного остеосинтеза. Он опи-

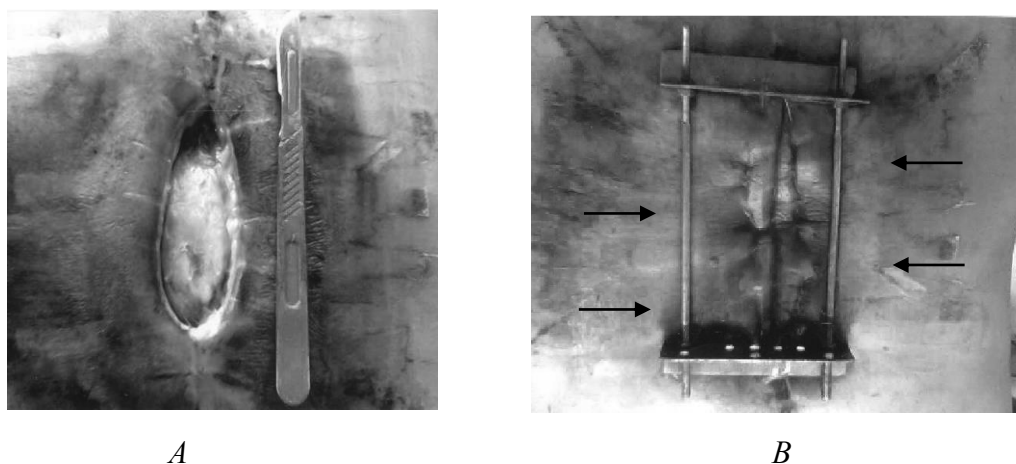
сал влияние растяжения на рост тканей в клинической практике. Возможность растяжения различных тканей организма, особенно соединительной, в настоящее время является установленным фактом и достаточно широко используется в клинической практике. В то же время вопрос о том, как структурно обеспечивается этот процесс, до настоящего времени остается недостаточно изученным. Рост ткани стимулируется растяжением, в ней увеличивается количество сосудов, клеток и межклеточного вещества. Данные литературы также указывают на то, что при растяжении кожи возрастает число активных фибробластов и усиливается кровоснабжение ткани.

Мы считаем, что суть процесса увеличения поверхности кожи при напряжении растяжения состоит именно в самом растяжении. Скорее всего, дело в том, что при растяжении мягких тканей, как при использовании аппарата Илизарова, так и других, изменяется форма клеток эпидермиса, дермы, подкожножировой клетчатки и др. Изменение формы клеток приводит к изменению объема клетки. Объем цитоплазмы уменьшается, хотя объем ядра изменяется мало. Силы растяжения действуют на биологическую мембрану самой клетки, тогда как воздействия растяжения на мембрану ядра нет.

Уменьшение объема цитоплазмы по отношению к объему ядра приводит к изменению важного для процесса митоза ядерно-цитоплазматического соотношения. Такое изменение ядерно-цитоплазматического соотношения в сторону уменьшения наблюдается в  $G_1$ -стадии митотического цикла. Другими словами, эти изменения, происходящие в клетке, являются стимулом, включающим процессы, предшествующие делению клетки.

Следует указать, что в клетке имеются специальные волюморцепторы, которые контролируют изменение объема цитоплазмы. Возможно, что указанный нами процесс, оказывает раздражающее влияние на эти рецепторы, которые стимулируют более глубокие процессы в клетке, приводя ее к делению.

В процессе лечения аппаратным методом («Универсальное устройство для лечения ран» (предварительный патент № 13864 от 05.11.2003 г., создан на основе «Устройства для лечения ран», патент № 4540 17.05.1999г.) хирургической раны имеются элементы растяжения мягких тканей (рис.).



*Рис. Рана до (А) наложения и после (В). На рисунке видно, что края раны испытывают напряжения растяжения (показано стрелками на рисунке 1 В)*

Возможно также использование его для дозированного растяжения мягких тканей при дефекте кожного покрова (после иссечения опухоли, ожогах и др.). Следовательно, при использовании данного аппарата стимулируются митотические процессы в клетках, приводящие к ускорению заживления раны, что и было отмечено в клинике и эксперименте.

# СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ

*С.Ю. Зайцев*

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии  
им. К.И. Скрябина, 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. акад. Скрябина, 23  
E-mail: szaitsev@mail.ru*

Проблема изучения природных супрамолекулярных биохимических систем (СБС) и создания искусственных СБС с заданными свойствами, представляющих собой высокоорганизованные комплексы белков, липидов и других биологически активных соединений (БАС), в настоящее время являются одной из наиболее актуальных и находится «на стыке» биохимии и молекулярной биологии, био- и нанотехнологии. Наиболее характерные примеры таких СБС – это мембраны, липосомы, наночастицы и ультратонкие пленки с иммобилизованными белками и синтетическими ионохроматофорами, которые являются уникальными моделями для исследования процессов молекулярного узнавания и взаимодействия БАС, а также перспективными новыми бионаноматериалами с комплексом особых свойств [1].

В процессе развития наших исследований различные липиды и их производные, поверхностно-активные мономеры и полимеры, мембранные белки и ферменты были изучены как структурно-функциональные компоненты таких СБС (несколько примеров упомянуты ниже и детально описаны в многочисленных публикациях, в том числе в недавних обзорах [1, 2] и монографии [3]).

Одними из наиболее перспективных для бионанотехнологии СБС являются стабильные нанослои ферментов (типа глюкозооксидазы, уреазы и т.д.), адсорбированные на положительно заряженных или цвиттерионных липидных монослоях. Показано, что различные биосенсоры, полученные на основе таких липид-ферментных нанопленок, способны определять соответствующие БАС (глюкозу, мочевины и т.д.) в физиологической области концентраций. Параметры указанных биосенсоров могут быть оптимизированы с использованием липидоподобных мономеров и полимеров [2].

Детально исследованы нанослои природных липидов и их синтетических аналогов на границе раздела фаз, с которыми эффективно взаимодействуют адсорбированные ферменты типа липаз из различных источников. Для описания ферментативного гидролиза на границе раздела фаз предложена кинетическая модель процесса и определены эффективные константы реакций. Впервые получены многокомпонентные комплексы на основе синтетических и природных полимеров с иммобилизованными липазами и показана возможность управлять каталитической активностью этих ферментов путем регуляции состава и свойств комплексов [3].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Zaitsev S.Yu., Solovyeva D.O., Nabiev I. // Adv. Colloid Interface Sci. 2012. Vol. 183–184. P. 14–29.
2. Зайцев С.Ю. Российские нанотехнологии. 2009. Т. 4. №7–8. С. 6–18.
3. Зайцев С.Ю. Супрамолекулярные наноразмерные системы на границе раздела фаз: Концепции и перспективы для бионанотехнологий. М.: ЛЕНАНД, 2010. 208 с.

*Отдельные части данной работы были поддержаны грантом РНФ 14–16–00046.*

## РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА: ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*К.А. Лепихов*

*Университет земли Саар, г. Саарбрюкен, Германия  
E-mail: k.lepikhov@mx.uni-saarland.de*

Открытие сайт специфических эндонуклеаз, а также ферментов, позволяющих сшивать (лигировать) молекулы ДНК, в сочетании с развитием методов определения нуклеотидной последовательности способствовали возникновению и развитию генной инженерии. Дальнейшее развитие методов манипуляций с ранними эмбрионами животных, включая млекопитающих, дало возможность создания трансгенных организмов, т.е. организмов с направленными и наследуемыми изменениями генома. Открытие способов выделения и культивирования эмбриональных стволовых клеток млекопитающих дополнительно расширило инструментарий и возможности управляемого редактирования генома, включая избирательное выключение и модификацию генов.

Существенный прорыв в редактировании генома в последние годы был обусловлен применением эндонуклеаз с контролируемой специфичностью. Первыми были созданы эндонуклеазы на основе Transcription activator-like effector из бактерий рода *Xanthomonas* (TALENs). Эти модифицированные нуклеазы способны с высокой специфичностью распознавать нуклеотидные последовательности больше тридцати пар оснований. В последнее время (с 2013 года) наиболее активно используются CRISPR/Cas9 нуклеазы из бактерий *Streptococcus*. Специфичность этих эндонуклеаз определяется направляющей РНК, состоящей из двух частей: 84 нуклеотида, ответственных за образование комплекса с Cas9 нуклеазой, и 18–20 нуклеотидов, комплементарно взаимодействующих с ДНК мишенью и определяющих специфичность комплекса. Простота дизайна и высокая специфичность системы CRISPR/Cas9 значительно упростили и ускорили процедуру направленного редактирования генома в различных организмах: бактериях, растениях, насекомых и позвоночных.

Мы применили CRISPR/Cas9 инструментарий в нашей лаборатории для введения мутаций в ДНК мышей, кодирующую два альтернативных первых экзона оксигеназы Tet3. Этот фермент катализирует образование 5-гидроксиметилцитозина из 5-метилцитозина в зиготах млекопитающих. Мы обнаружили наличие двух альтернативных изоформ фермента в зрелых яйцеклетках мыши, отличающихся аминокислотными последовательностями, кодируемыми первыми экзонами (Tet3 oocyte specific и Tet3CXXC). Для того, чтобы изучить биологические функции обеих изоформ фермента, были созданы линии мышей, несущие мутации, которые приводят к сдвигу рамки чтения в области первых экзонов, кодирующих изоформы Tet3. В настоящее время мы проводим изучение влияния введенных мутаций на процессы эпигенетического репрограммирования в раннем эмбриогенезе мышей.

---

## НОВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ВИРУСОЛОГИИ

*И.П. Савченкова*

*Всероссийский Научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 344090, Российская Федерация, г. Москва, Рязанский пр., 24/1  
E-mail: s-ip@mail.ru*

В докладе большое внимание уделяется мультипотентным мезенхимным стволовым клеткам (ММСК), выделенным из жировой ткани и костного мозга млекопитающих, в том числе человека. Основываясь на собственных исследованиях, обсуждаются перспективы использования ММСК



в вирусологии, которые определяются их основными свойствами и признаками. Доступность биологического материала, из которого можно выделить клетки со свойствами и признаками ММСК делает это направление особенно привлекательным.

Приводятся и обсуждаются данные собственных исследований, которые позволяют рассматривать эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) мыши как перспективный материал для изучения сложных механизмов взаимодействий между клеткой и вирусом инфекционной анемии лошадей *in vitro* и *in vivo*. ЭСК мыши обладают уникальными характеристиками: способны в культуре при индукции к дифференцировке образовывать клетки всех типов тканей и органов. По достижении высокой плотности монослоя или при удалении фидерного слоя они способны формировать в суспензии трехмерные клеточные агрегаты – эмбриональные тельца (ЭТ), которые представляют собой зачатки эндо-, экзо-, мезодермы, и базальной ламины, и напоминают постимплантационное эмбриональное развитие мыши. В связи с этим ЭТ могут представлять интерес для крупномасштабного наращивания вирусов в биореакторах, что требуется при создании вакцин. Но самое главное, что отличает ЭСК от других клеточных типов, если эти клетки вернуть обратно в ранний эмбрион, они участвуют в формировании всех тканей развивающегося плода, в том числе гамет, давая начало химерным животным. Обсуждаются перспективы использования ЭСК для разработки новых подходов, а именно, создания лабораторной мышинной модели для изучения лентивирусных инфекций *in vivo*, в том числе вызванных вирусом иммунодефицита человека. Таким образом, стволовые клетки являются новой клеточной моделью для проведения фундаментальных исследований в биологии, медицине и ветеринарии. Уникальные свойства этих клеток делает их самым перспективным материалом для разработок новых клеточных технологий в вирусологии.

---

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ ГЕНОМА ПРИ ИНБРИДИНГЕ. ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ

*В.Н. Стегний*

*Национальный исследовательский Томский государственный университет, Научно-исследовательский институт биологии и биофизики, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36*

*E-mail: stegniy@res.tsu.ru*

Инбредное воспроизведение потомства приводит к гомозиготизации по аллелям полиморфных генов. Жесткий (братско-сестринский) инбридинг приводит к инбредной депрессии популяции и часто к ее гибели через десятки поколений. Это общеизвестные генетические положения.

Однако наши исследования показали, что при инбридинге (особенно жестком) происходит гораздо более сложная структурно-функциональная реорганизация генома, прежде всего касающаяся генеративной системы, которая может приводить к различным эволюционно значимым последствиям (от возникновения нового генетического полиморфизма до сальтационного видообразования). Именно геномы клеток генеративной тканевой системы при жестком инбридинге подвергаются структурным и функциональным перестройкам. В 1957 г. К. Бир [1] обнаружил у мухи *Calliphora erythrocephala* при братско-сестринском инбридинге существенные преобразования структуры хромосом от обычных интерфазных до политенных в клетках трофоцитов яичников (сестринских с ооцитом). Эти преобразования нарастали к 7-му поколению инбридинга (без всякого отбора) и коррелировали с нарушениями развития ранних эмбрионов, приводящими к стерильности, причем причиной этого не была гомозиготизация по генам стерильности, поскольку эффект проявлялся постепенно, как и появление политенных хромосом. Очевидно, трофоциты яичников с такими хромосомами транслировали дефективную позиционную информа-

цию РНК-продуктов в цитоплазму ооцита, приводящую к нарушению оогенетической сегрегации и к остановке развития яйца на ранних стадиях. Аналогичная ситуация известна у линий *otu* (с псевдопитающими клетками) *Drosophila melanogaster* [2]. Наши работы по *C. erythrocephala* полностью подтвердили данные К. Бира [3]. В некоторых исследованиях, где использовался жесткий инбридинг, но авторов интересовал лишь отбор по конкретным признакам, мы увидели именно эффекты инбридинга, а не отбора в таких показателях как резкое повышение мутабельности [4], активация мобильных генетических элементов [5], нарушений раннего эмбрионального развития [6].

Таким образом, при жестком инбридинге происходят: 1) структурная и функциональная дестабилизация генома генеративной (репродуктивной) системы (в половых клетках наблюдается изменение структуры хромосом, реорганизация хроматина по локализации и количеству, появление-исчезновение хромосомно-мембранных связей); 2) активация мобильных генетических элементов, благодаря чему отмечается «лавинообразная» генерация мутаций различных типов (генных, хромосомных, геномных, системных) и модификаций гетерохроматина по локализации и количеству.

Вышеприведенные эффекты могут приводить не только к видообразованию, но и к формированию адаптивного генетического полиморфизма. Однако полиморфизм может возникать только на основе генных и хромосомных мутаций. Возникновение же геномных и системных мутаций приводит к эффектам, сопряженным с видообразованием [7, 8].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bier K. Endomitose und polytanie in den Nahrzellenkernen von *Calliphora erythrocephala* Meigen // Chromosoma. 1957. Vol. 8. P. 493–522.
2. King R.C., Riley S.F., Cassidy J.D. Giant polytene chromosomes from the ovaries of a *Drosophila* mutant // Science. 1981. Vol. 212. № 4493. P. 441–445.
3. Стегний В.Н., Вассерлауф И.Э., Ананьина Т.В. Идентификация, взаиморасположение и развитие первичных политенных хромосом в ядрах трофоцитов у *Calliphora erythrocephala* (Diptera: Calliphoridae) // Генетика. 1999. Т. 35. № 7. С. 912–918.
4. Кайданов Л.З. Анализ генетических последствий отбора и инбридинга у *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биол. 1979. Т. 40. С. 834–850.
5. Гвоздев В.А., Кайданов Л.З. Геномная изменчивость, обусловленная транспозициями мобильных генетических элементов, и приспособленность особей *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биол. 1986. Т. 47. С. 51–63.
6. Науменко Е.В., Попова Н.К., Иванова Л.Н. Нейроэндокринные и нейрохимические механизмы доместикации животных // Генетика. 1987. Т. 23. № 6. С. 1011–1025.
7. Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1993. 111 с.
8. Стегний В.Н. Цитогенетика эволюционного процесса: учебно-методическое пособие. Томск: Томский государственный университет, 2013. 168 с.

---

## ВРЕМЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ

**В.А. Чистяков, А.Б. Брень, С.А. Емельянец**

Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

E-mail: vladimirchi@sfedu.ru

Будучи основным источником энергии и одним из важнейших генераторов активных форм кислорода в эукариотической клетке, митохондрии долгое время изучались именно в этих аспектах. Новые данные позволяют взглянуть на них как на регуляторный, сигнальный и триггерный центр. Сбои в работе ассоциированных с митохондриями биохимических путей и механизмов

управления клеточными процессами ведут к развитию митохондриальных болезней, что делает актуальным создание митохондриально-направленных лекарств.

Низкомолекулярные соединения могут быть направлены в митохондрии как физически (концентрироваться там), так и функционально – взаимодействовать с митохондриальными мишенями, например рецепторами, но при этом более-менее равномерно распределяться в клетке

Механизмы «физического» митохондриального таргетирования небольших молекул следующие:

– преимущественная аккумуляция в митохондриях вследствие гидрофобности и положительного заряда;

– проникновение в митохондрии за счет переноса с уникальными митохондриальными белками;

– связывание с веществами, характерными именно для митохондрий, например с кардиолипином

– метаболическая конверсия специфическими митохондриальными ферментами.

Необходимо отметить, что митохондриальная компонента особенно характерна для возрастных патологий, развитие которых отражает работу программы фенотоза [1–3]. О глубине вовлеченности митохондрий в процессы клеточной регуляции свидетельствует и опыт использования первых митохондриально-направленных лекарств на основе липофильных катионов. Наиболее изученный из этих препаратов – (6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфоний (SkQ1) способен частично отключать программу возрастного фенотоза, что проявляется в снижении выраженности более 20 параметров, характеризующих старение млекопитающих [3, 4], причем эти параметры характеризуют такие разные функции как, например, зрение и размножение [2].

Способность концентрироваться в митохондриях характерна и для углеродных наночастиц [5]. Возможно, этим могут объясняться обнаруженные для фуллерена c60 [6] и многостенных углеродных нанотрубок адаптогенные свойства [7]. Мы считаем, что аккумуляция углеродных наночастиц в митохондриях осуществляется за счет электрохимического механизма, основанного на приобретении липофильными наночастицами положительного заряда за счет протонирования [8, 9].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Скулачев В.П. Как отменить программу старения организма? // Российский химический журнал. 2009. Т. 53. С. 125–140.
2. Skulachev V.P. Aging as a particular case of phenoptosis, the programmed death of an organism (a response to Kirkwood and Melov «On the programmed/non-programmed nature of ageing within the life history») // Aging (Albany NY). 2011. № 3. P. 1120–1123.
3. Скулачев В.П. Попытка биохимиков атаковать проблему старения: «Мегапроект» по проникающим ионам. Первые итоги и перспективы // Биохимия, 2007. Т. 72. С. 1385–1396.
4. Anisimov, V.N., Egorov, M.V., Krasilshchikova, M.S., Lyamzaev, K.G., Manskikh, V.N., Moshkin, M.P., Novikov, E.A., Popovich, I.G., Rogovin, K.A., Shabalina, I.G., Shekarova, O.N., Skulachev, M.V., Titova, T.V., Vygodin, V.A., Vyssokikh, M.Y., Yurova, M.N., Zabezinsky, M.A., and Skulachev, V.P. Effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents // Aging (Albany NY). 2011. № 3. P. 1110–1119.
5. Foley S., Crowley C., Smahi M., Bonfils C., Erlanger B.F., Seta P., Larroque C. Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2002. Vol. 294. P. 116–119.
6. Baati T., Bourasset F., Gharbi N., Njim L., Abderrabba M., Kerkeni A. Szwarc H., Moussa F. The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of [C60] fullerene // Biomaterials. 2012. Vol. 33. P. 4936–4946.
7. Khodakovskaya M.V., Kim B.S., Kim J.N., Alimohammadi M., Dervishi E., Mustafa T. Cernigla C.E. Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community // Small. 2013. № 9. P. 115–123.
8. Chistyakov V.A., Smirnova Y.O., Prazdnova E.V., Soldatov A.V. Possible mechanisms of fullerene C60 antioxidant action // Biomed. Res. Int. 2013. 821498.
9. Chistyakov V.A., Zolotukhin P., Prazdnova E.V., Alperovich I., Soldatov A.V. Physical consequences of the mitochondrial targeting of single-walled carbon nanotubes probed computationally // Physica E. 2015. Vol. 70. P. 198–202.

# МикроРНК – РОЛЬ В АДАПТАЦИИ И ЭВОЛЮЦИИ

*Т.П. Шкурат*

*Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1*

*E-mail: tshkurat@yandex.ru*

*МикроРНК* представляют собой новый рубеж в области молекулярной генетики, геномики, транскриптомики и протеомики. Они имеют огромный потенциал для продвижения нашего полного понимания биологических процессов при нормальном развитии человека и его эволюции. Показано, что они играют центральную роль в многочисленных биологических процессах, необходимых для жизнеспособности и функции клеток. В последние годы активно изучаются разнообразные, динамичные и многогранные роли микроРНК по всему спектру клеточных процессов.

Последние достижения в области биоинформационных и геномных технологий выявили сложную пост-транскрипционную регуляторную сеть в геноме человека, связанную с микроРНК. Тем не менее, вклад микроРНК в эволюцию человека, особенно его межындивидуальные различия, только начинает изучаться.

Будут представлены собственные результаты биоинформационных исследований локализации микроРНК у разных видов млекопитающих в зависимости от эволюционно закрепленных фенотипических признаков – рост, вес, количества доминирующих фолликулов. Основываясь на данных последних исследований, рассмотрен вопрос о том, что эволюция пост-транскрипционного контроля может быть адаптивной, и что она не только дополняет основную регуляцию факторов транскрипции, но и разнообразит экспрессию генов фенотипа, тем самым создавая новые генетические связи на которые естественный отбор действует впоследствии.

Учитывая, что в настоящее время эволюционные подходы и картирование генотип-фенотип, в первую очередь сфокусированы на белок-кодирующих генах, комплексные исследования посттранскрипционных вариаций микроРНК должны быть включены в будущие исследования, чтобы ответить на сложный вопрос об этапах и факторах эволюции человека.

## СТРУКТУРА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВ ГОРОДОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

*Т.Н. Ажогина, Л.Н. Илюшкина*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, кафедра биохимии и микробиологии, 344090, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1*

*E-mail: t.azhogina@mail.ru; lnilyushkina@sfedu.ru*

Одной из актуальных проблем современных городов является увеличение техногенного загрязнения почвы, воздуха и воды, что разрушительно влияет на состояние здоровья городского населения. В крупных городах России усиливаются процессы, воздействующие на функционирование почв – переуплотнение корнеобитаемого слоя, запечатанность поверхности почв асфальтом, сокращение биоразнообразия почвенной микрофлоры и мезофауны, загрязнение тяжелыми металлами и поллютантами [1]. Индикатором благополучия почвенных экосистем может служить состояние почвенных микробных сообществ. Структура микробных сообществ почв во многом определяются типом антропогенного воздействия и его интенсивностью [2].

В связи с вышесказанным, целью данной работы явилось изучение микробных сообществ почв городов Ростовской области. Объектом данного исследования являлись почвы рекреационных зон городов Юга России: мегаполиса Ростова-на-Дону и двух небольших близлежащих городов – Азова и Аксая, располагающихся на расстоянии 25 и 1,7 км, соответственно.

Материалом исследования были пробы образцов почвы, отобранные методом конверта на глубине 0–10 см в следующих парках: в *Ростове-на-Дону* – парки им. Максима Горького, им. Николая Островского; в *Аксае* – Парк культуры и отдыха и Мухина балка; в *Азове* – парк «Жемчужина Азова», Сквер Азова. Парки им. Островского, Мухина Балка и Сквер Азова находятся ближе к окраинам городов, а парки им. Горького, Культуры и отдыха и «Жемчужина Азова» являются центральными.

Для определения структуры микробиоценозов были определены такие показатели как: ОМЧ, количество актиномицетов и плесневых грибов.

В ходе анализа полученных данных установлено, что для микробиоценозов почв всех исследуемых урболандшафтов характерен низкий процент содержания микромицетов на протяжении всего периода исследования (табл.). Их доля во всех образцах не превышала 9,1 %, за исключением микробиоценоза почв парка «Жемчужина Азова» весной 2014 года. А доля актиномицетов и бактерий была непостоянной на протяжении периода исследования. Так, в 2014 году во всех образцах, кроме образцов почв парка им. Горького и парка Культуры и отдыха, доминировали актиномицеты. В 2015 году картина резко изменилась и доминирующее положение заняли бактериальные культуры. Только в почвах Сквера Азова и парка им. Горького их доля была меньше, чем доля представителей актиномицетов. Такая разнонаправленная динамика содержания бактерий и актиномицетов является вполне закономерной, если учесть наличие антагонистических взаимоотношений между данными группами. При этом в большинстве случаев доля бактериальных форм была выше в почвах центральных парков по сравнению с почвами окраинных парков, что может быть связано с большей посещаемостью данных территорий.

## Доля разных групп микроорганизмов в микробном сообществе

Город	Парк	2014			2015		
		а/м, %	грибы, %	ОМЧ, %	а/м, %	грибы, %	ОМЧ, %
Азов	СА	66,5	9,1	24,4	82,5	7	10,7
	ЖА	58,3	38,75	2,95	11,1	0,7	88,2
Ростов-на-Дону	О	50,9	6,3	42,8	29,2	4,1	66,7
	Г	26,2	1,7	72,1	91,8	0,1	8,1
Аксай	МБ	66,2	6,6	27,2	22,1	3,3	74,6
	КО	41,5	2,2	56,3	2,3	0,1	97,6

**Условные обозначения:** а/м – актиномицеты, ОМЧ – общее микробное число; СА – Сквер Азова; ЖА – парк «Жемчужина Азова»; О – парк им. Николая Островского; Г – парк им. Максима Горького; МБ – Мухина Балка; КО – Парк культуры и отдыха.

Следует отметить, что структура микробиоценозов окраинных парков городов Азова и Аксая являлась более постоянной. Так, на протяжении периода исследования не отмечено смены доминирующих группировок в данных микробиоценозах, характерной для других рекреационных зон. Такое постоянство, вероятно, связано с менее выраженным антропогенным воздействием на данные почвы, которое обусловлено их территориальным расположением.

Для установления закономерностей изменения структуры микробиоценозов почв данных рекреационных зон необходимо накопить достаточный массив многолетних данных, полученных с использованием одних и тех же методов, что обеспечит достоверность и сопоставимость полученных результатов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Современная микробиология. Прокариоты: в 2 т. / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля. М.: Мир, 2005. 1152 с.
2. Лысак Л.В. Бактериальные сообщества городских почв: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2010. 46 с.

## ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ

*Е.Н. Бакаева<sup>1,2</sup>, А.В.Бакаев<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Институт наук о Земле, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, 40

<sup>2</sup>Институт водных проблем РАН, Гидрохимический отдел, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 198

<sup>3</sup>Ростовский государственный строительный университет, 344010, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Социалистическая, 56  
E-mail: rotaria@mail.ru

Обеспечение населения качественной питьевой водой является наиболее насущной проблемой в условиях усиливающихся процессов эвтрофикации и токсификации поверхностных вод. В связи с этим возрастает важность интегральной оценки качества вод, поскольку экологический контроль прогрессирующего возрастания количества новых химических веществ невозможен, к тому же он осложнен аддитивностью и синергетическим действием большинства соединений. Получение объективной оценки и характеристики биологических эффектов, вызываемых хи-

мическими веществами природного и антропогенного происхождения, являются прикладными аспектами водной экотоксикологии.

Ответ о качестве вод и реальной ситуации в водном объекте может дать только биота. Биологические методы, с помощью которых определяют качество воды, подразделяют на две группы: биоиндикацию и биотестирование. *Биоиндикация* позволяет определить сапробность, трофность и класс качества вод. На основе *биотестирования* получают оценку токсичности вод и донных отложений, синхронное определение которых дает оценку экотоксикологического статуса водного объекта и позволяет принимать управляющие решения по биозащите питьевых вод.

Неблагоприятные экотоксические эффекты рассматривают на уровне организма (аутэкоксические), популяции (демэкоксические) и биогеоценоза (синэкоксические). В случае оценки экотоксичности природных вод в отношении представителей одного вида живых существ, получаемой методом биотестирования, используют качественные и количественные характеристики, принятые в классической токсикологии. В первую очередь – величины острой, подострой и хронической токсичности. В случае оценки экотоксичности вод и донных отложений, проводимых одновременно, можно говорить об опасности или экологическом риске для экосистемы.

В результате эвтрофирования вод происходит увеличение содержания хлорофилла *a*, последовательная смена видов микроводорослей с преобладанием сине-зеленых (*Cyanophyta*) и зеленых (*Chlorophyta*) водорослей, увеличение биомассы фитопланктона в целом. Вода, насыщенная продуктами метаболизма водорослей, становится аллергенной и токсичной. Опасными являются не сами сине-зеленые микроводоросли, а выделяемые ими токсины. По характеру воздействия на биоту выделяют четыре группы цианобактериальных токсинов: гепатотоксины, нейротоксины, дерматотоксины и цитотоксины, эндотоксины, приводящие к соответствующим заболеваниям гидробионтов, сельскохозяйственных животных и человека.

Проблема массового развития токсичных сине-зеленых микроводорослей (цианобактерий) в водоемах питьевого и рекреационного назначения с точки зрения опасности для здоровья населения отнесена Всемирной организацией здравоохранения к одной из приоритетных. В большинстве развитых стран установлены ПДК для наиболее распространенных цианотоксинов, определена программа мониторинга токсичного цветения и комплекс мероприятий по предупреждению неблагоприятного воздействия цианотоксинов на здоровье населения. В нашей стране к настоящему времени стандарты безопасного для здоровья человека содержания цианотоксинов в воде и продуктах питания все еще не разработаны.

Биологическими методами в ходе многолетних экспедиций Гидрохимического отдела Института водных проблем РАН исследована динамика экотоксичности вод приплотинного участка Цимлянского водохранилища, совместно с Институтом наук о Земле ЮФУ – экотоксичность малых рек бассейна нижнего Дона. Приведена динамика пространственно-временной токсичности, трофности, концентрации сине-зеленых микроводорослей (цианобактерий). Отмечено усиление процессов токсификации поверхностных вод в период цветения сине-зеленых микроводорослей.

---

## **ЧИСЛЕННОСТЬ САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВАХ РЕКРЕАЦИОННЫХ ЗОН ГОРОДОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

*М.В. Бузулукская, Л.Н. Илюшкина*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского,  
344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: lnilyushkina@sfedu.ru; konspirator10@mail.ru*

Городская почва – сложный объект, располагающийся на стыке природных и городских систем. Именно здесь происходит наложение антропогенных процессов на естественные процессы

почвообразования [1]. Установлена прямая зависимость между уровнем заболеваемости человека и животных кишечными инфекциями и неудовлетворительным состоянием почвы [2]. С середины девяностых годов XX века микробиологические показатели включены в комплексную оценку городских почв в нашей стране и за рубежом [3].

В соответствии с вышесказанным, целью данной работы явилась оценка численности санитарно-показательных микроорганизмов в почвах рекреационных зон трех городов Ростовской области: Ростова-на-Дону, который является мегаполисом, Азова и Аксая.

Пробы отбирались в октябре 2014 г. методом «конверта» на глубине 0–10 см в следующих парках: в *Ростове-на-Дону* – парки им. Максима Горького и им. Николая Островского; в *Азове* – парк «Жемчужина Азова» и Сквер Азова; в *Аксае* – парк Культуры и отдыха и Мухина балка. Подготовка почвы к анализу осуществлялась общепринятыми методами [4]. Определение общего микробного числа и количества термофильных микроорганизмов производили на МПА методом глубинного посева, колиформных бактерий выделяли титрационным методом на среде Кесслера [5].

Общее микробное число в исследуемых образцах колебалось в пределах от  $7,5 \pm 0,56$  до  $11,7 \pm 0,72 \times 10^5$  КОЕ/г почвы (табл.). При этом не установлено статистически достоверной разницы между показателями ОМЧ в разных городах. Таким образом, содержание микроорганизмов в исследуемых почвах на порядок ниже фоновых значений, характерных для данной местности. Данный фактор может указывать на ингибирование жизнедеятельности микрофлоры в почвах исследуемых урболандшафтов за счет факторов антропогенного пресса.

Таблица

**Санитарно-показательные микроорганизмы почв рекреационных зон**

Город	Образец	Термофилы, $\times 10^3$ КОЕ/г почвы	ОМЧ, $\times 10^5$ КОЕ/г почвы
Ростов-на-Дону	Г	$9,5 \pm 0,57$ * $\infty$	$7,5 \pm 0,56$
	О	$14,5 \pm 0,52$ *	$7,8 \pm 0,44$
Азов	ЖА	$6,7 \pm 0,37$ $\infty$	$11,7 \pm 0,72$
	СА	$9,2 \pm 1,39$	$9,5 \pm 7,49$
Аксай	КО	$5,3 \pm 0,40$ * $\infty$	$11,3 \pm 7,09$
	МБ	$14,8 \pm 0,36$ *	$8,8 \pm 0,55$

**Условные обозначения:** \* – статистически достоверные различия показателя в почвах разных зон в пределах одного города ( $p \leq 0,05$ );  $\infty$  – достоверные различия показателя в почвах центральных зон разных городов ( $p \leq 0,05$ ); ОМЧ – общее микробное число; СА – Сквер Азова; ЖА – парк «Жемчужина Азова»; О – парк им. Николая Островского; Г – парк им. Максима Горького; МБ – Мухина Балка; КО – Парк культуры и отдыха.

По содержанию термофильных бактерий исследуемые почвы относились к категории слабо загрязненных. Кроме того, почвы парка им. М. Горького характеризовались более высокими значениями данного показателя, чем почвы парка «Жемчужина Азова» и парка Культуры и отдыха, которые также являются центральными. Вероятно, это обусловлено более высокой рекреационной нагрузкой, которая приходится на парк мегаполиса. В почвах окраинных парков количество термофилов было статистически достоверно выше по сравнению с почвами центральных парков.

По содержанию колиформных бактерий все почвы относились к категории опасных почв. Таким образом, следует отметить, что почвы исследуемых рекреационных зон подвергаются мощному антропогенному воздействию, которое приводит к перестройке микробиоценоза и увеличению численности потенциально опасных групп микроорганизмов. Данная ситуация требует постоянного мониторинга и разработки мер, позволяющих улучшить санитарное состояние почв урболандшафтов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Экологические функции городских почв / Под ред. А.С. Курбатова. Смоленск: Маджента, 2004. 232 с.
2. Еремина И.А. Микробиология. Кемерово: КемТИПП, 2007. 111 с.



3. *Фомин Г.С.* Почва: Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. М.: Протектор, 2001. 304 с.
4. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 304 с.
5. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Книга 1 / Под ред. А.С. Лабинской, Е.Г. Волиной. М.: БИНОМ, 2008. 1080 с.
- 

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОВЕДЕНИЮ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПРИ СКРИНИНГЕ КСЕНОБИОТИКОВ-ИНДУКТОРОВ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ**

*Р.Ф. Гарипова*

*Оренбургский государственный аграрный университет, Институт агротехнологий и лесного дела, 460000, Российская Федерация, г. Оренбург, пер. Малоторговый, 2  
E-mail: garipova-r@yandex.ru*

Оценка эпигенетических эффектов на основе необратимых клеточных структурно-метаболических повреждений ускоряет процедуру объективной оценки опасности загрязнителей и раскрывает возможность экстраполяции данных биотестирования для прогнозирования отдаленных последствий воздействия техногенных факторов на микробные, растительные и животные объекты. Предложенная система эпигенетической оценки потенциальных загрязнителей позволяет повысить объективность скрининга токсикантов и подготовить методическую базу для выявления индукторов последствия в экспресс-методах, основанных на представлениях о нестохастической наследуемой клеточной летальности. Новые подходы в предлагаемой методологии биотестирования основываются на:

- выявлении компонентов сред, индуцирующих цито- и морфофизиологические реакции, необратимые структурно-метаболические повреждения в тест-объектах;
- использовании кривых фактического распределения морфометрических показателей организмов, отражающих тенденцию развития популяции под влиянием изучаемого индуктора.

Рекомендации разработаны на основе многолетнего экомониторинга зоны влияния газоперерабатывающих предприятий, анализа динамики микроэлементного загрязнения почв и растений. Экоанализ выявил приоритетные поллютанты сточных вод, почв, растений, обладающие наибольшим потенциалом повреждающего действия по признакам биологического поглощения, устойчивости их комплексных соединений с биолигандами, при этом являющиеся потенциальными индукторами эпигенетической изменчивости. В систему биотестов для скрининга индукторов эпигенетической изменчивости включили: 1) тесты на выявление структурно-метаболических клеточных повреждений; 2) тесты на выявление индуцированных морфофизиологических аномалий и морфометрических реакций организмов на воздействие.

Интегрированная оценка полученных данных позволила дать объективный прогноз отдаленным последствиям воздействия на биоту поллютантов, представленных в окружающей среде в относительно малых дозах. Особое место в исследованиях отведено перспективам применения фитотестов как относительно дешевых и удобных объектов.

Предложены следующие рекомендации:

1. В целях оптимизации скрининга токсикантов вести учет повреждающего эффекта в фитотестах, начиная с малых концентраций, вызывающих стимуляцию ростовых процессов, так как стимулирующие метаболизм клеток компоненты сред способны вызывать морфофизиологические аномалии, как на растительных, так и животных организмах.

2. В комплексную оценку загрязнителей включить анализ цитогенетических, структурно-метаболических, морфофизиологических нарушений и морфометрических флуктуаций в фитотестах. Для контроля за структурно-метаболическим состоянием клеток использовать показатели: количество клеток с тремя и более ядрышками в диплоидном ядре, длительность мацерации тканей (например, корешков луковиц *A. cerea*). Это позволяет при интегрированной оценке нарушений прогнозировать способность веществ вызывать эффекты последствия, возникающие на основе конформационных изменений клеточных биополимеров и компенсаторных реакций клеток на стресс.

3. Для решения задачи объективного прогнозирования популяционных изменений, вызываемых техногенным фактором, использовать принцип выявления факторов стабилизирующего и дизруптивного отбора в популяциях.

---

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ РИСКА НА РАЗВИТИЕ МОЗГОВОГО ИНСУЛЬТА У ЖИТЕЛЕЙ РОСТОВА-НА-ДОНУ

*Ю.А. Долгушева*

*Ростовский государственный медицинский университет, 344022, Российская Федерация,  
г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29  
E-mail: jk161@yandex.ru*

В настоящее время главным образом проведен анализ эндогенных факторов риска при острых нарушениях мозгового кровообращения (ОНМК), в то время как планетарные воздействия остаются недостаточно изученными. В работе приводится подробный анализ воздействия факторов солнечной активности (СА), состояния магнитного поля и климата на больных с мозговыми инсультами (МИ).

Исследование проводилось двумя методами:

1. Ретроспективное изучение протоколов патологоанатомических вскрытий лиц, умерших от ОНМК (всего 1 135 случаев) по материалам БСМП № 1 г. Ростова-на-Дону за годы высокой (2000–2002) и низкой СА (2008–2010).

2. Изучение данных по факторам, характеризующих СА, геомагнитным и метеорологическим индексам в виде статистических исследований, выявление взаимосвязей между набором признаков СА, геомагнитными и метеорологическими индексами, и показателями МИ, сгруппированными по дате дебюта МИ.

Статистический анализ данных выполнен в Центре БИОСТАТИСТИКА под руководством доцента факультета информатики Томского государственного университета, к.т.н., В.П. Леонова. Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью статистических пакетов SAS 9.2, STATISTICA 10 и SPSS-20.

Среди факторов риска мозгового инсульта артериальная гипертензия отмечалась у 87 % больных. В 87,7 % случаев наблюдался атеросклероз 3–4-й степени. Заболевания сердца составили 89,2 %. У 72,8 % больных МИ был первым, у 27,2 % – повторным. Заболевания почек и сахарный диабет отмечались у 26,5 и 19,3 % лиц, умерших от МИ, соответственно. Алкоголизм выявлен в 7,8 % случаев.

Отмечено значительное увеличение количества МИ в период низкой СА (в период низкой СА – 848 дебютов МИ (74,7 %); в период высокой СА – 287 (25,3 %)). Установлено, что в период высокой СА статистически чаще присутствуют больные, перенесшие МИ геморрагического типа (преимущественно с правосторонней локализацией), а период низкой СА – ишемического типа (с левосторонней локализацией) ( $X^2 = 11,401$ ;  $p = 0,003$ ). При этом в абсолютном исчислении дебюты МИ статистически чаще происходили в холодное время года (зима, весна). Наблюдается

разделение инсультов по сезонности: геморрагический тип МИ имеет тенденцию к увеличению частоты развития зимой и весной, а ишемический – летом и осенью ( $X^2 = 11,258$ ;  $p = 0,01$ ). В период низкой СА статистически чаще встречаются заболевания атеросклероз сосудов головного мозга (3–4-й степент) ( $X^2 = 28,237$ ;  $p < 0,01$ ), ишемическая болезнь сердца ( $X^2 = 41,056$ ;  $P < 0,01$ ) и мерцательная аритмия ( $X^2 = 5,715$ ;  $p < 0,01$ ).

Анализ материала по возрастным признакам показал, что среднестатистический возраст в популяции составил 68 лет. В период высокой СА статистически выше смертность от МИ пациентов более молодого возраста, а в период низкой СА – значительно выше смертность пожилых пациентов ( $X^2 = 45,705$ ;  $p < 0,01$ ). Определено, что в целом геморрагический тип МИ оказался более подвержен биотропным факторам высокой солнечной ( $X^2 = 25,256$ ;  $p < 0,001$ ) и геомагнитной ( $X^2 = 2,170$ ;  $p = 0,041$ ) активности. Углубленный анализ с разбивкой типа инсульта на классы показал, что данная зависимость обеспечена преимущественно кровоизлияниями (гематома и осложненная гематома). При исследовании метеорологических данных статистически достоверно установлено, что биотропное влияние на ишемический тип МИ оказывают высокая среднесуточная температура воздуха (жара) ( $X^2 = 31,818$ ;  $p < 0,001$ ), частая и резкая смена ее величины ( $X^2 = 16,993$ ;  $p < 0,001$ ) в сочетании с излишней инсоляцией ( $X^2 = 18,282$ ;  $p < 0,001$ ) и пониженной влажностью ( $X^2 = 6,776$ ;  $p = 0,009$ ), что также может приводить к нарушению системы сосудисто-тромбоцитарного гемостаза вследствие обезвоживания организма. Напротив, для геморрагического типа МИ фактором риска может являться пониженная температура (холод) ( $X^2 = 31,818$ ;  $p < 0,001$ ) в сочетании с высокой облачностью ( $X^2 = 24,391$ ;  $p < 0,001$ ) и влажностью ( $X^2 = 6,776$ ;  $p = 0,009$ ). Выявленная зависимость геморрагического инсульта от резкого перепада атмосферного давления ( $X^2 = 5,002$ ;  $p = 0,025$ ) является очевидным фактором, стимулирующим кровоизлияния. Смена доминанты стресс-фактора в различные периоды солнечной активности имеет гипотетическое объяснение и требует дальнейшей эмпирической проверки. Подробные результаты исследования представлены в авторской монографии [1].

Рассматривая факторы риска как причины возникновения МИ в группе больных с различными церебро-вазкулярными заболеваниями (группа риска), стала очевидной заметная, на фоне эндогенных факторов риска, роль факторов внешней среды.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мартиросян В.В., Долгушева Ю.А. Анализ влияния гелиогеофизических и метеорологических факторов на инсульты с учетом фаз солнечного цикла. Ростов н/Д: Изд-во АкадемЛит, 2014. 412 с.

## ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НЕКОНТАКТНО АКТИВИРОВАННЫХ ПИТЬЕВЫХ ВОД НА ИХ ГЕНОТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO*

О.В. Зацепина<sup>1,2</sup>, Ф.И. Ингель<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Закрытое акционерное общество «Чистая вода», 443072, Российская Федерация, г. Самара, Волжское ш., 105

<sup>2</sup>Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ, 443099, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина МЗ РФ, ГСП-119992, Российская Федерация, г. Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 1  
E-mail: zatsepinaolga@mail.ru; fainaingel@mail.ru

Известно, что качество питьевой воды определяется не только ее химическим составом, содержанием микрофлоры, но и физико-химическими свойствами. Поэтому все более широкое

распространение получают технологии водоподготовки, изменяющие физико-химические свойства питьевой воды. Особенно много приборов создано для электрохимической активации воды, представляющих собой диафрагменные электролизеры. При этом в районе катода накапливается католит – электрон-донорная вода с отрицательными значениями окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) и повышенными щелочными значениями pH, а в районе анода – электрон-акцепторная вода анолит с повышенными положительными значениями ОВП и кислым pH.

Для улучшения качества активированной питьевой воды было предложено использовать неконтактную электрохимическую активацию (НА), когда питьевая вода в тонкостенном полиэтиленовом пакете погружается в емкость с контактно электрохимически активированной водой. В результате происходит изменение физических параметров воды, находящейся в пакете без изменения ее химического состава, что позволяет считать такую воду более безопасной, чем полученную в контактных электролизерах. Однако в процессе неконтактной электрохимической активации в воде изменяются не только окислительно-восстановительный потенциал (ОВП), но и доля связанной (структурированной) фазы (СФ) и другие физико-химические свойства, что оказывает влияние на процессы формирования, стабилизации и функционирования клеточных мембран, белков и ДНК. Эти данные позволяют предположить у неконтактно электрохимически активированных вод (НАВ) наличие генотоксической активности, что требует оценить генотоксическую активность таких вод.

В нашей работе для неконтактной электрохимической активации использовали: водопроводную воду (г. Москва, г. Самара), обессоленную артезианскую воду (г. Самара), бутилированную питьевую минеральную столовую негазированную воду «Пилигрим» (г. Черкесск). Работу проводили в микроядерном тесте на культуре клетках крови человека с цитохалазином В. Среду для культивирования цельной крови человека готовили растворением стерильной сухой питательной среды RPMI-1640 в исследуемых водах. Определяли частоты двуядерных клеток с микроядрами (МЯ) и нуклеоплазменными мостами, а также частоту генетических повреждений в делящихся клетках, пролиферативную активность, спектр делящихся клеток, асимметрию деления клеток во втором митотическом цикле, частоты митоза и апоптоза.

Исследования показали, что в результате НА питьевая вода (католиты и анолиты) приобретают генотоксическую активность, которая проявляется, в основном, как изменение пролиферативной активности, повышение частоты клеток с генетическими повреждениями и клеток в состоянии апоптоза. Состав исходной (неактивированной) воды и режим активации играют существенную роль в приобретении ею генотоксической активности. В механизмах возникновения эффектов нестабильности генома, индуцированных католитами и анолитами, полученными из одной и той же воды, играют роль разные физико-химические свойства НАВ:

– в анолитах митотическая активность культуры, частота ускоренно делящихся клеток с генетическими повреждениями и частота апоптоза ассоциированы с уровнями ОВП и pH, а в католитах – со светосуммой люминол-геминовой хемилюминесценции;

– в анолитах частота делящихся клеток с повреждениями в культуре крови уменьшалась с увеличением пролиферативного пула (что характерно для действия мутагенов), в то время как для католитов в этих условиях – увеличивалась (что описано для канцерогенов).

Изменение доли связанной фазы воды в культуре клеток крови человека ассоциировано с индукцией эффектов нестабильности генома.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что использование электрохимического метода активации воды для постоянного и неограниченного по объему употребления населением недопустимо. Поэтому перед получением разрешительной документации на приборы, изменяющие физико-химические свойства питьевой воды, следует проводить дополнительные исследования для оценки их генетической безопасности.

# ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВ РАЙОНА ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫБРОСОВ НОВОЧЕРКАССКОЙ ГРЭС

*Т.В. Минникова, П.В. Гобелков, Т.В. Денисова, С.И. Колесников*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

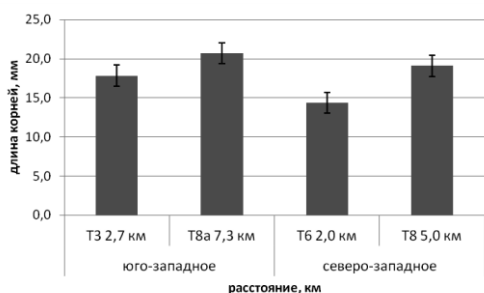
*E-mail: loko261008@yandex.ru; pashatick@gmail.ru; denisova777@inbox.ru; kolesnikov@sfnedu.ru*

Ростовская область является развитым индустриально-сельскохозяйственным регионом РФ. Наибольшее воздействие на здоровье населения региона, по литературным данным [1, 2], оказывают выбросы филиала «ОГК-6» ОАО Новочеркасская ГРЭС (НчГРЭС). Вклад выбросов НчГРЭС в загрязнение РФ составляет 1 %, Ростовской области – 50 %. При сжигании угля в атмосферный воздух поступает более половины всей массы загрязняющих атмосферу Новочеркасска веществ и тяжелых металлов (ТМ). Помимо сернистого ангидрида и окислов азота в выбросах содержится сажа (свыше 30 т), пятиокись ванадия (около 8 т), оксид железа (свыше 3 т), хромовый ангидрид и др. [3]. В золе сохраняется до 85 % содержащихся в исходном угле химических элементов. Большая часть выбросов оседает на поверхности почвы и в зависимости от формы нахождения участвует в биологических процессах.

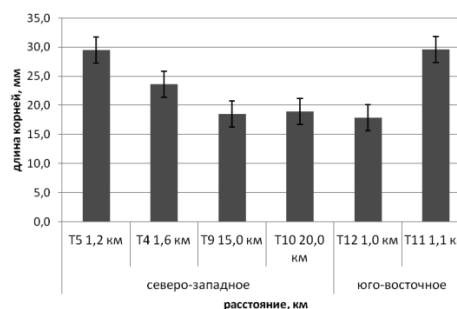
Объектами исследования были выбраны черноземные и лугово-черноземные почвы на расстоянии 1,0–20,0 км от Новочеркасской ГРЭС. Согласно «розе» ветров, были выбраны точки так называемого генерального направления (северо-западного) на расстоянии 1,2–20,0 км от НчГРЭС. В юго-западном и юго-восточном направлениях образцы почв были отобраны только из ближней зоны (1,0–1,5 км).

Для определения фитотоксичности почвы использовали наиболее чувствительный показатель интенсивности начального роста: длину корней [4, 5]. В качестве тест-объекта использовали редис (*Raphanus sativus*) сорта «Кварта». По истечении 4 дней роста была измерена длина корней каждого растения в каждой чашке.

Согласно полученным результатам (рис. а) с увеличением расстояния от НчГРЭС рост редиса на лугово-черноземной почве увеличивается, в то время как в ближней зоне – уменьшился. Эта тенденция характерна как для юго-восточного, так и для северо-западного (генерального) направлений. Отличительной чертой лугово-черноземных почв является гидроморфность нижних горизонтов почвенного профиля. Лугово-черноземные почвы лучше обеспечены усвояемыми формами питательных веществ, и условия влагообеспеченности в них более благоприятны, чем в соответствующих зональных черноземах [6, 7].



*а*



*б*

*Рис. Изменение длины корней редиса:*

*а – лугово-черноземные почвы; б – чернозем обыкновенный карбонатный*

Рост редиса на черноземах (рис. б) имел противоположную тенденцию: в северо-западном (генеральном) направлении наблюдали снижение длины корней с увеличением расстояния. Стимуляция длины корней в ближней зоне может быть вызвана содержанием эссенциальных тяжелых металлов (Cu, Ni и др.), большим, чем на расстоянии 15,0–20,0 км [8]. В то время как в юго-восточном направлении с увеличением расстояния наблюдали увеличение показателя.

Таким образом, на длину корней редиса оказывают значительное влияние несколько факторов: тип почв, содержание тяжелых металлов, фракционный состав тяжелых металлов (прочно связанные, непрочно связанные соединения) и расстояние от НчГРЭС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Экология Новочеркасска. Проблемы, пути решения / Под ред. Н.В. Белоусовой Ростов н/Д: Изд-во СКНЦ ВШ, 2001. 393 с.
2. Государственный доклад «О состоянии окружающей природной среды г. Новочеркасска в 1997 году». Новочеркасска, 1998. 27 с.
3. Кизильштейн Л.Я., Гофен Г.И., Перетятко А.Г., Левченко С.В. Элементы-примеси в углях, продуктах сгорания, растениях, почвах и атмосфере района тепловой электростанции // Известия СКНЦ ВШ. 1990. № 2. С. 42–52.
4. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М.: Изд-во: МГУ, 1983. 249 с.
5. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2012. 260 с.
6. Безуглова О.С., Хырхырова М.М. Почвы Ростовской области. Учебное пособие. Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2008. 352 с.
7. Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Почвы Ростовской области: генезис, география и экология. Ростов н/Д: Изд-во Южного федерального университета, 2012. 316 с.
8. Минкина Т. М., Мотузова Г. В., Манджиева С. С., Назаренко О. Г., Бурачевская М. Ю., Антоненко Е. М. Фракционно-групповой состав соединений Mn, Cr, Ni и Cd в почвах техногенных ландшафтов (район Новочеркасской ГРЭС) // Почвоведение. 2013. № 4. С. 414–425.

---

## ОСОБЕННОСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ НАНОМАТЕРИАЛОВ

*Ю.Н. Моргалёв, Т.Г. Моргалёва, И.А. Гостева, С.Ю. Моргалёв*

*Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36  
E-mail: yu.morgalev@gmail.com*

В окружающей среде существуют естественные наночастицы, постоянно образующиеся в геологических и биологических процессах и поступающие в воздух, почву и водоемы из вулканического пепла, грязей, в результате выдувания и вымывания из геологических пород, и осадков. Факт существования стабильных экосистем в зонах естественной интенсивной продукции наночастиц свидетельствует о том, что за долгую эволюционную историю живые системы сформировали механизмы устойчивости к ним. Однако в последние два десятилетия развитие нанотехнологий привело к быстрому росту разнообразия искусственных наночастиц (НЧ) и наноматериалов (НМ), многие из которых принципиально отличаются от естественных НЧ по своим физико-химическим характеристикам (в том числе – элементным составом, более высокой дисперсностью, внутренней структурой и сложной пространственной организацией). Экспоненциально возрастающее количество созданных человеком НЧ и НМ рассеивается в окружающей среде в ходе их производства, оборота, использования и утилизации. Процессы транс-

локации искусственных НЧ и НМ в окружающей среде изучены крайне недостаточно, однако современные данные по их физической миграции между атмосферой, гидросферой и литосферой, делают весьма вероятным накопление НМ в растительных, животных организмах, в том числе в микроорганизмах, передачу по пищевой цепи и повреждение природных экосистем.

Проведены исследования с использованием 40 тест-организмов различных систематических групп в составе более 200 тест-систем на чувствительность к разным видам металлических (золоту, серебру, платине, никелю, палладию), бинарных НЧ (оксидам алюминия, титана, цинка, церия, железа, карбиду и нитриду кремния) и углеродных нанотрубок в широком диапазоне концентраций и размеров. Одним из критериев отбора тест-организмов было их присутствие в составе пищевых цепей. Введение НЧ в состав культивационных сред в большинстве случаев не приводило к гибели тест-организмов, но вызывало серьезные нарушения их тест-функций: негативный хемотаксис *Parameciumcaudatum*, изменения выживаемости, нарушения трофической активности и плодовитости четырех видов водных животных (*Daphniamagna* Straus и *Ceriodaphniaaffinis*; *Daniorerio* и *Cyprinuscarpio*), изменения прироста массы *Chlorellavulgaris* В., нарушения биосинтеза хлорофиллов а, b и каротиноидов у разных видов высших растений (*Lemnaminor* L., *Phaseolusvulgaris* L. и *Triticumaestivum* L.), повышение содержания амарантина в тканях *Amaranthuscruentus* L, нарушения структуры сырьевой части сельскохозяйственных культур (корнеплодов *Raphanussativus* L., семян *Pisum* L., разновидность *cirrosum Makash*) изменение энергии прорастания семян сельскохозяйственных растений (*Avenasativa* L., *Triticumaestivum* L., *Lycopersiconesculentum* L., *Hordeumvulgare* L., *Phaseolusvulgaris* L. и *Raphanussativus* L. Следует отметить, что наиболее выраженное токсическое воздействие дисперсных систем (ДС) искусственных НЧ проявлялось в концентрациях, возможных в природной среде (не более 10 мг/л). Исследована стабильность тестируемых ДСНМ, созданных на основе культивационных сред. Превышение исходной концентрации НМ 5 мг/л приводит к увеличению скорости агрегации НЧ в ДС и существенному снижению их конечной концентрации. При определении безопасности НМ необходимо учитывать отсутствие монотонной зависимости уровня токсичности для некоторых видов НЧ. Различные по выраженности, а порой и разнонаправленные, тест-реакции организмов разных систематических групп требуют при оценке экологической безопасности изучения тест-реакций специально подобранной (в зависимости от сферы возможного размещения, использования и утилизации нанопродукции) совокупности тест-организмов.

Исследования возможности биоаккумуляции и транслокации наночастиц по пищевым цепям показало, что НЧ, попавшие в поверхностные слои почвы, могут мигрировать с внутрипочвенными и грунтовыми водами на расстояния нескольких сот метров, загрязняя нижележащие почвы и водоемы. Контаминация почв разного типа приводит к снижению общей микробной численности на 70 %, подавлению роста азотфиксирующих бактерий на 78 % и разнонаправленным изменениям нитрифицирующих свойств почв. Установлена биоконцентрация НЧ в гидробионтах разных трофических уровней: одноклеточных водорослях (хлорелла) с величиной коэффициента биоконцентрации (КБК) до 30000, низших ракообразных (дафнии) – до 5000, в рыбах (дании, карпы) – до 900. Хлорелла может служить источником передачи НЧ консументам по пищевой цепи в концентрированном виде, что приводит к более высоким коэффициентам биоаккумуляции, превышающим КБК в 4–7 раз. При использовании продуктов рыбоводства, полученных из рыб, подвергшихся длительной контаминации НЧ, концентрация аккумулированных НЧ убывает в ряду: ткани ЖКТ – жабры – скелет – мышцы – кожа. В полевых экспериментах при выращивании в почве, контаминированной НЧ, кормовых и овощных культур, наибольшая аккумуляция зарегистрирована в листьях амаранта (КБА=18), семенах фасоли (КБА=10) и корнеплодах редиса (КБА=3).

Таким образом, при попадании НЧ во внешнюю среду возможно повреждение водных сообществ и биоценозов сельскохозяйственного назначения, изменение качества растительных продуктов питания и продуктов рыбоводства, и животноводства.

# ИССЛЕДОВАНИЕ МЕМБРАНОТРОПНЫХ ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ (МГТБ) В КАЧЕСТВЕ БИОПРОТЕКТОРОВ ДЛЯ ГИДРОБИОНТОВ (НА ПРИМЕРЕ *DAPHNIA MAGNA*)

А.С. Олькова<sup>1</sup>, М.С. Краснов<sup>2</sup>, В.П. Ямскова<sup>3</sup>, И.А. Ямсков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Вятский государственный гуманитарный университет, 610007, Российская Федерация, г. Киров, ул. Красноармейская, 26

<sup>2</sup>Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991, ГСП-1, В-334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 28

<sup>3</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26

E-mail: morgan-abend@mail.ru; embrmsk@mail.ru; yamskova-vp@yandex.ru

Поиск безопасных биопротекторов для микро- и мезогидробионтов, жизнедеятельность которых – это основа природного механизма самоочищения водоемов, является одним из новейших направлений развития методов биоремедиации водоемов. Известные и давно используемые биологически активные вещества, такие как витамины, аминокислоты, ферменты, невозможно использовать в условиях природных и искусственных водоемов. Учеными Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН и Института элементоорганических соединений РАН открыты и предложены для лечебных целей пептидно-белковые комплексы с доказанными биорегуляторными и протекторными свойствами, действующими в сверхмалых дозах.

Целью данной работы было исследование возможности применения мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов (МГТБ) в качестве биопротекторов для гидробионтов на примере низших ракообразных *Daphnia magna* St.

Исследовалось протекторное действие биорегулятора, выделенного из сыворотки крови крупного рогатого скота. Проводили биотестирование водных сред, загрязненных сульфатом меди с витальной концентрацией ионов меди, равной 0,039 мг/дм<sup>3</sup>, что соответствует 0,01 ПДК для питьевых вод или 10 ПДК для вод рыбохозяйственных водоемов. По аттестованной методике оценивали смертность и изменение плодовитости низших ракообразных *Daphnia magna*.

При биотестировании было выявлено, что сывороточный биорегулятор (БРС) оказывает воздействие на дафний как при добавке препаратов в чистую водную среду, так и в загрязненную тяжелыми металлами. Результаты представлены в таблице.

Таблица

Влияние сывороточного биорегулятора на *D. magna*

Вариант	Время первого вымета молоди, сут.	Плодовитость, шт./1 взрослую особь	Наличие эффекта по сравнению с контролем*
Контроль (без добавок)	8	9,1±1,4	–
Контроль + БРС	8	12,1±1,3	Достоверная стимуляция ( $p<0,05$ )
0,01 ПДК <sub>н</sub> (Cu <sup>2+</sup> )	10	11,0±0,7	Тенденция стимуляции ( $p>0,05$ )
0,01 ПДК <sub>н</sub> (Cu <sup>2+</sup> ) + БРС	10	12,6±1,2	Достоверная стимуляция ( $p<0,05$ )

\* – наличие эффекта оценивалось с помощью критерия достоверности Стьюдента.

БРС оказывал положительный эффект на развитие особей *D. magna* в чистой среде. Наблюдалось одновременное появление выводковых камер у всех рачков модельных популяций на 6-й



день эксперимента, в то время как у рачков в контрольной среде без добавок такой синхронности не было. Количество молоди при воздействии БРС на 10-й день эксперимента превышало контрольные показатели в 1,7 раза. Данная тенденция сохранялась в течение всего опыта, и в заключительный 24-й день экспозиции констатировали математически значимое увеличение плодовитости по сравнению с контролем. Однако первоначальная разница в плодовитости несколько нивелировалась и составила 1,3 раза.

В загрязненной среде сывороточный биорегулятор оказывал протекторное действие уже в первой половине опыта, увеличивая рождаемость до 25 %, по сравнению с модельной загрязненной средой без БРС. Динамика рождаемости в загрязненной среде на фоне исследуемого препарата была аналогична контрольным показателям: сформировалось два пика массового появления молоди. При воздействии меди без биорегулятора средняя плодовитость была недостоверно выше контрольных показателей, что связано с функциями меди в микродозах как необходимого для организмов элемента. Но при этом динамика процесса была аномальна: наблюдали угнетение рождаемости в начале эксперимента с последующим единственным пиком рождаемости.

Таким образом, показано протекторное действие мембранотропного гомеостатического тканеспецифического биорегулятора сыворотки крови на гидробионтов в модельных экспериментах с *Daphnia magna*. Отметим, что эффект оказался не столь выраженным, как в отношении позвоночных животных. Тем не менее, можно рекомендовать препарат для дальнейших испытаний в качестве натурального биологически активного вещества для выращивания мальков рыб, а также разработки методов ремедиации водоемов с невысокими уровнями загрязнения.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект № 15–34–5038715).*

---

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ АНИЛИНА И ГИДРОКИНОНА, СОПРЯЖЕННОГО С КИСЛОТНО-КАТАЛИТИЧЕСКИМ РАСХОДОВАНИЕМ ЭПОКСИДА СТИРОЛА В ПОЛЯРНЫХ СРЕДАХ**

*Л.В. Петров, Б.Л. Психа, В.М. Соляников*

*Институт проблем химической физики РАН, 142432, Российская Федерация, Московская обл., г. Черноголовка, пр. Акад. Н.Н. Семенова, 1  
E-mail: plv@icp.ac.ru; psi@icp.ac.ru; sol@icp.ac.ru*

Ароматический углеводород стирол, крупнейший органический полупродукт мирового химического производства (> 26 млн. т в год), широко использующийся при получении пластиков и изделий из них, способен при контактировании накапливаться в биологических объектах. Процесс выведения его из живого организма связан, прежде всего, с окислительной пероксидазной детоксикацией в клетках печени с образованием эпоксида стирола (ЭС) и бензальдегида (БА). Биохимическими исследованиями установлено, что доля окислительного маршрута при биотрансформации стирола может достигать ~ 100 % и скорость окисления в ряде случаев заметно зависит от pH среды. Отсюда наш интерес к механизму образования БА в отсутствие пероксидазных ферментов в обнаруженном в полярных средах окислительном превращении эпоксида стирола при катализе пара-толуолсульфокислотой (ТСК) и природе участвующих в нем интермедиатов. ЭС трудноокисляем кислородом по радикально-цепному механизму даже при высокой температуре (413 К) в присутствии инициатора свободных радикалов. Введение при 343 К в растворы ЭС в ацетонитриле или смешанном растворителе БУХ (90 % об. трет. бутанола + 10 % об. хлорбензола) каталитических количеств ТСК, серной кислоты или хлорной

кислоты, наряду с быстрым брутто-расходом ЭС, вызывает интенсивное поглощение молекулярного кислорода в отсутствие инициатора. Ввод инициатора в последнем случае скорость поглощения не увеличивает. По нашим данным, реакция окисления двойной системы (ЭС + кислота) не радикальная. В бескислородной атмосфере такая система разрушает пероксид водорода и вводимые в нее гидропероксиды различного строения в десятки раз быстрее, чем при кислотно-катализируемом распаде в этих условиях. Кинетическое исследование необычного поведения этой химической модельной системы позволило обнаружить ряд результатов, предполагающих механизм с образованием активной промежуточной частицы карбена – фенилметилена.

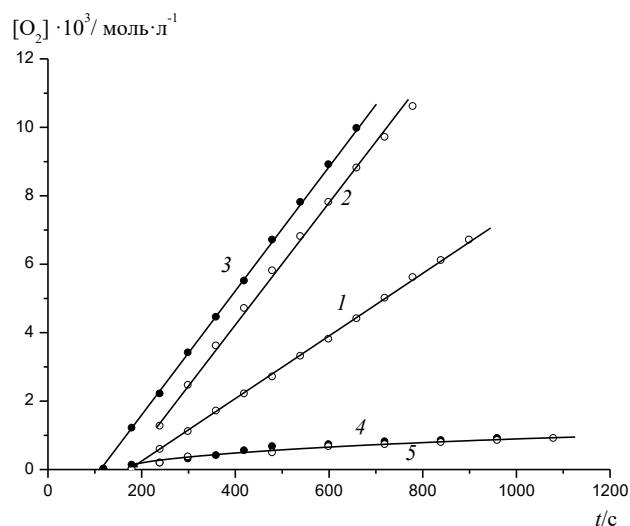


Рис. 1. Кинетические кривые поглощения  $O_2$ : ДС (1); оксидатом 1 после ввода в него ГХ (2); ТрС с ГХ (3); парами реагентов ГХ-ТСК и ГХ-ЭС (4, 5).  $[ЭС]_0=0,52$ ,  $[ТСК]=0,011$ ,  $[ГХ]=0,13$  моль/л

Ароматические амины и фенолы – широко используемые в науке и производстве ингибиторы радикально-цепных процессов. Тем не менее, при исследовании способов торможения низкотемпературного (343 К) окисления кислородом эпоксида стирола в ацетонитриле обнаружено не замедление, а ускорение поглощения кислорода при введении  $\alpha$ -нафтиламина, *o*-, *m*-, *n*-аминофенолов и анилина (Ан) в двойную систему (ДС) ЭС + ТСК [1]. Соответственно, в полярном смешанном растворителе БУХ (90 % об. трет. бутанола + 10 % хлорбензола) аналогичный ввод в ДС 1,4-бисфенола (гидрохинона) тоже вызывал увеличение, а не падение скорости окисления (рис. 1).

Окисление в присутствии аминов и гидрохинона (ГХ) идет, несомненно, с участием ингибиторов: бесцветные исходные растворы в ходе окисления интенсивно окрашиваются. Закономерности окисления тройной системы ТрС (Ан–ЭС–ТСК), изучены с применением манометрической методики (по поглощению кислорода оценивался квазирадикальный маршрут, сопутствующий основному гетеролитическому пути превращения ЭС). Выражение скорости поглощения кислорода через концентрации реагентов  $V_{ТрС} = k [Ан]^0 [ЭС]^0 [ТСК]^1$  при  $[Ан], [ЭС] \gg [ТСК]$ . Нулевые порядки по анилину и эпоксиду объясняются прочным комплексобразованием трех исходных реагентов, предшествующим окислению [2]. Характер зависимости  $V$  от состава растворителя сложный (рис. 2). Предложена формально-кинетическая схема процесса. Экстремальный характер изменения  $V_{ТрС}$  от состава смешанного растворителя ацетонитрил – БУХ объяснен разрушением комплекса с увеличением концентрации спирта в растворе. Полученные данные не подтверждают заметного вклада в окисление ТрС (Ан–ЭС–ТСК) каналов с участием накапливающихся продуктов,  $H_2O_2$  и фенилацетальдегида (ФУА).

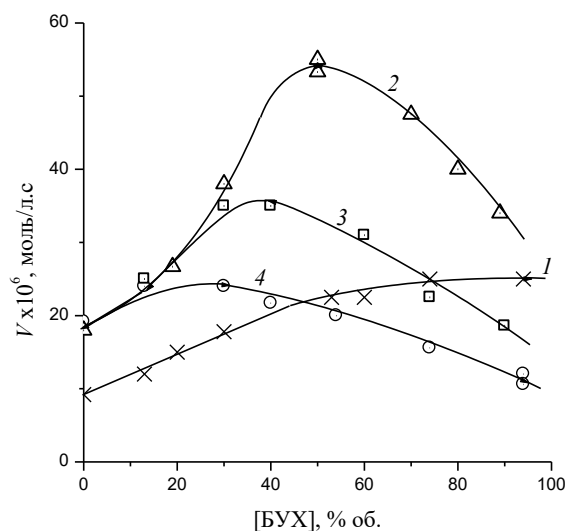


Рис. 2. Зависимость скорости окисления ДС (1) и ТрС (2 – 4) систем от состава смешанного растворителя  $CH_3CN - БУХ$ ,  $[ЭС]_0 = 0,52$ ,  $[ТСК] = 0,023$  моль/л, 343 К; 1 – ДС; 2 – ТрС,  $[Ан] = 0,09$  моль/л; 3 – ТрС,  $[Ан] = 0,183$  моль/л; 4 – ТрС,  $[Ан] = 0,37$  моль/л.

В реакции гидрохинона с эпоксидом стирола в кислом спиртовом растворе обнаружена отчетливая квазирадикальная составляющая. Кинетика процессов в ТрС (ГХ–ЭС–ТСК) сложная. Гидрохинон, расходуясь, вызывает ускорение расходования ЭС и накопления продуктов превращения ЭС в присутствии ТСК – БА (табл.) и ФУА.

Таблица

**Соотношения прироста величин  $V_j$  в зависимости от [ГХ] в ТрС**

№	[ГХ], моль/л	0	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
1	$\Delta V_{O_2} \cdot 10^{-5}$ , моль/л.с	1,27	0,9	1,7	2,1	2,4	2,5
2	$\Delta V_{БА} \cdot 10^{-5}$ , моль/л.с	0,97	0,67	1,1	1,4	1,6	1,7
3	$\Delta V_{ЭС} \cdot 10^{-4}$ , моль/л.с	1,83	0,4	0,85	1,25	1,7	2,13
4	$(\Delta V_{БА} / \Delta V_{O_2}) \cdot 10^2$ , %	76,4	74	65	66	66	68
5	$(\Delta V_{БА} / \Delta V_{ЭС}) \cdot 10^2$ , %	5,30	16,8	12,9	11,2	9,4	8,0
6	$(\Delta V_{O_2} / \Delta V_{ЭС}) \cdot 10^2$ , %	6,93	24	20	17	14	12

ГХ заметно повышает соотношение скоростей реакций поглощения  $O_2$  и брутто-расходования ЭС в ТрС(ГХ – ЭС – ТСК) ( $\Delta V_{O_2} / \Delta V_{ЭС} \approx 0,24$  (343 К)). Доля квазирадикального окислительного маршрута может трехкратно превышать этот показатель для ДС( ЭС – ТСК) (табл., строка 6).

**ЛИТЕРАТУРА**

- Петров Л.В., Соляников В.М. Окисление кислородом эпоксида стирола в кислой среде – ускорение аминами // Известия АН. Сер. хим. 2015. № 1. С. 107–111.
- Петров Л.В., Соляников В.М. Поглощение кислорода тройной системой амин – эпоксид стирола – кислота // ДАН. 2014. Т. 458. № 2. С. 169–171.

# РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕСНОВОДНЫХ ВОДОЕМОВ

*Н.И. Полякова, Л.А. Пельгунова, А.Н. Пельгунов*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071, Российская Федерация,  
г. Москва, Ленинский пр., 33  
E-mail: polyakova.nat@mail.ru*

Важной радиоэкологической проблемой Чернобыльской аварии явилось долгосрочное загрязнение водоемов  $^{137}\text{Cs}$ . В результате аварии в пределах Брянской области наиболее загрязненными оказались западные территории. В настоящее время основным техногенным радиоактивным загрязнителем речных и озерных экосистем Брянской области является  $^{137}\text{Cs}$ . В связи с этим возникают актуальные задачи по исследованию в многолетнем аспекте как накопления, так и перераспределения  $^{137}\text{Cs}$  по пищевым цепям, а также по изучению закономерностей накопления этого радионуклида в зависимости от биологических показателей рыб.

Исследования по оценке современного радиоэкологического состояния рыб р. Ипуть и оз. Кожановское проводились в период с 2004 по 2015 гг.

Для радиоспектрометрического анализа проб рыб использовали гамма спектрометрическую установку DSPec-jr-3.0 ORTEK (АМТЕК, США) на основе детектора из сверхчистого германия объемом 60 см<sup>3</sup>, эффективностью регистрации 60 %. Для спектрометрического анализа брали мышцы рыб (100–150 г). При анализе мелких особей (менее 100 г) для проб использовали «тушку», т. е. тело рыбы без внутренностей, головы и хвоста. Пробы высушивали в сушильных шкафах при температуре  $100 \pm 5$  °C в течение 3–4 ч, затем озоляли. Удельную активность  $^{137}\text{Cs}$  рассчитывали в Бк/кг сырой массы (с.м.) мышц или тушки. Погрешность определения  $^{137}\text{Cs}$  составляла  $\pm 5$  %.

Проведенные в период с 2004 по 2015 гг. радиоэкологические исследования ихтиофауны р. Ипуть и оз. Кожановское выявили существенные различия в биоаккумуляции  $^{137}\text{Cs}$  у рыб разных трофических уровней. Результаты исследований хищных, а также растительноядных видов рыб и бентофагов из р. Ипуть показали, что удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  в их тканях в послеаварийный период снижалась. Известно, что уровень загрязнения  $^{137}\text{Cs}$  мышц щуки в 1992 г. был в среднем на уровне 380 Бк/кг с.м. [1]. К 2006 г. этот показатель снизился до 270 Бк/кг с.м. У «мирных» видов рыб, в частности у серебряного карася, удельная активность радионуклида к 2014 году снизилась в среднем до 22,6 Бк/кг с.м., при минимальных значениях 13,7 Бк/кг с.м. В этот период удельная активность в воде р. Ипуть составляла 1,61 Бк/л, а в донных отложениях – 141,2 Бк/кг.

При проведении в 2015 году радиоэкологических работ на оз. Кожановское установлено, что в данном водоеме снижение удельной активности радионуклида в тканях происходит более медленными темпами, чем в речных экосистемах. До настоящего времени в этом водоеме установлены аномально высокие показатели  $^{137}\text{Cs}$  в рыбах, превышающие ПДУ, равные 150 Бк/кг с.м. [2]. В мышцах исследованных особей щуки удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  превысила ПДУ более чем в 10 раз и составила 1620 Бк/кг с.м.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Рябов И.Н. Радиоэкология рыб водоемов в зоне влияния аварии на Чернобыльской АЭС. М.: КМК, 2004. 215 с.
2. СанПиН 2.3.2.1078–01 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы, утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 06.11.2001. Часть 2.

# ПОЛУЧЕНИЕ НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ НА 3,4-ДИХЛОРАНИЛИНЕ

*А.В. Полякова*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского  
344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: avpolyk@rambler.ru*

В современный период в связи с мощным антропогенным воздействием в гидросферу, литосферу и атмосферу попадает огромное количество загрязнителей, многие из которых являются ксенобиотиками. Это вещества, которые синтезированы человеком и не встречаются в природе, либо природные соединения, оказывающие неблагоприятное воздействие на живые клетки (компоненты нефти, микробные метаболиты и т.д.). [1, 2]. Такие соединения очень устойчивы в окружающей среде и трудно поддаются микробному разложению, либо расщепляются достаточно быстро, но продукты их расщепления могут быть более устойчивы и токсичны, чем исходное соединение. Так, при разложении гербицидов из класса фенилкарбаматов и фенилзамещенных мочевинов образуются анилины и их хлорированные производные, которые достаточно устойчивы во внешней среде. Кроме того, анилины содержатся в промышленных стоках различных производств (например, красителей, фармпрепаратов, пестицидов) и с полей орошения. Таким образом, учитывая широкое распространение анилинов в почве и воде, не теряет своей актуальности проблема их разложения, так как анилин и другие ароматические амины легко проникают через кожу и являются токсичными для человека.

Способность микроорганизмов усваивать в качестве субстратов ксенобиотики показана в работах многих исследователей. Так, представители рода *Pseudomonas* способны усваивать более 200 органических соединений. Кроме того, виды *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Rhodococcus* также могут расти на многих субстратах [3, 4]. Однако структура популяций различных почв и водоемов отличается набором видов, осуществляющих трансформацию и деградацию ксенобиотиков. В связи с этим была предпринята попытка выявить бактерии, способные расти в присутствии хлорированных анилинов и установить их таксономическое положение.

В эксперименте использовался 3,4-дихлоранилин (3,4-ДХА). Для получения накопительных культур бактерий-трансформаторов использовали воду реки Темерник, поскольку данный водоем известен очень высокой степенью бактериального загрязнения, в связи с поступлением в него канализационной воды и сточных вод. Питательная среда для культивирования в качестве источника углерода и энергии содержала 3,4-ДХА в концентрации 50 мг/л. Бактериологический анализ воды реки Темерник показал, что в ней содержалось 360 тыс. кл/мл, что характерно для полисапробной зоны водоемов. Видовое разнообразие было представлено 17 видами бактерий. Полученные накопительные культуры уже через два месяца существенно отличались по числу бактерий и набору видов от исходной пробы: произошло снижение численности микроорганизмов в четыре раза (89 тыс кл/мл), а видовое разнообразие сузилось до четырех видов. В накопительных культурах после четырех месяцев культивирования наблюдалось увеличение численности популяции, которое через восемь месяцев почти достигло исходных значений (300 тыс кл/мл), что указывает на адаптацию бактерий к экстремальным условиям (бедный состав среды и наличие ДХА). Через год из накопительных культур было выделено пять штаммов бактерий. Видовая идентификация позволила установить систематическое положение данных культур, все они принадлежали к роду *Pseudomonas*: *Ps. chlororaphis*, *Ps. cepacia*, *Ps. aeruginosa*.

Далее была проверена способность выделенных штаммов расти в присутствии различных концентраций 3,4-ДХА: 100, 150, 200, 300 и 400 мг/л.

Все штаммы показали способность к росту на указанных концентрациях, однако наибольшую устойчивость к максимальной концентрации 3,4-ДХА (400 мг/л) проявили *Ps. chlororaphis* и *Ps. aeruginosa*.

Таким образом, получены накопительные культуры микроорганизмов на 3,4-ДХА, в которых в течение года изучены динамика численности и качественная перестройка исходной популяции. Бактерии рода *Pseudomonas* способны к адаптации и использованию в качестве источника углерода и энергии 3,4-ДХА. Наибольшая устойчивость к 3,4-ДХА установлена для *Ps. chlororaphis* и *Ps. aeruginosa*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Головлева Л.А., Головлев Е.Л. Микробиологическая деградация пестицидов // Успехи микробиологии. 1980. Т.15. С. 137–179.
2. Современная микробиология: Прокариоты: В 2 т. Т.1 / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля. М.: Мир, 2005. 656 с.
3. Скрябин Г.К., Головлева Л.А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. М.: Наука, 1976. 332 с.
4. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий. М.: Мир, 1982. 310 с.

---

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

**С.Б. Ракитин, Е.Б. Григоркина, Г.В. Оленев**

*Институт экологии растений и животных УрО РАН, Российская Федерация, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202*

*E-mail: rakitin@ipae.uran.ru; grigorkina@ipae.uran.ru; olenev@ipae.uran.ru*

Результаты изучения изменчивости микросателлитной ДНК у млекопитающих под влиянием техногенного загрязнения среды, в том числе радиоактивного, неоднозначны, что свидетельствует о сложности проблемы [1]. В настоящей работе с помощью молекулярно-генетических маркеров (микросателлитная ДНК) изучено генетическое разнообразие в выборках красных полевок (*Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779) из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС) (плотность загрязнения почвы  $^{90}\text{Sr}$  – 18,5 МБк/м<sup>2</sup> = 500 Ки/км<sup>2</sup>), с сопредельной (10 км) и географически удаленной (220 км) фоновых территорий. Проанализирована изменчивость четырех микросателлитных локусов: MSCg4, MSCg9, MSCg15, LIST-3–003 [2, 3]. Представлены данные по средней наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности у животных с исследуемых участков. Оценен индекс Гарза-Вильямсона (отношение числа аллелей к диапазону их размеров), значения которого свидетельствуют о сохранении генетического разнообразия в изученных выборках, несмотря на возможный эффект «бутылочного горлышка» [4] из-за низкой численности полевок данного вида в зоне ВУРСа. Рассчитан показатель инбредности *F<sub>is</sub>*, вычисленный по изучаемым локусам во всех выборках. Приведены данные по числу уникальных аллелей (т.е. присутствующих в единственном экземпляре лишь в одной из всех исследованных выборок) и показателю аллельного разнообразия, учитывающему размеры выборок. Проанализирована взаимосвязь между удельной активностью  $^{90}\text{Sr}$  в костной ткани полевок из зоны ВУРСа и гетерозиготностью по микросателлитным локусам. На основе дисперсии частот аллелей микросателлитных локусов (*F<sub>st</sub>*) оценена межпопуляционная генетическая дифференциация между изучаемыми выборками. Показаны значимые различия генетической структуры импактной (ВУРС) и фоновой (удаленной на 220 км) выборок. Различия между выборками полевок из зоны ВУРСа и с сопредельного фонового участка оказались на границе 5 %-ного уровня значимости; фоновые выборки значимо не различались, несмотря на существенную дистантную разобщенность.

В итоге, изложенные материалы обсуждаются с позиций определяющей роли миграций и конфигурации зоны локального техногенного загрязнения в формировании генетической изменчивости у мелких грызунов на сопредельных территориях. Полученные данные подтверждают наш [5] вывод, что территории, прилегающие к Восточно-Уральскому радиационному заповеднику, в настоящее время представляют собой уникальный полигон (зона влияния ВУРСа) для оценки роли повышенной частоты мутаций в процессах микроэволюции природных популяций, мутационный пул которых расширяется за счет генных потоков из зоны ВУРСа. Другим источником его пополнения может служить генетическая нестабильность, унаследованная от мигрантов из зоны загрязнения. Вокруг зоны ВУРСа создается территория с населением, несущим в себе последствия контакта с загрязнителем – своеобразное продолжение зоны на уровне биологических эффектов. Миграции на узкой и протяженной территории ВУРСа существенно снижают возможность передачи и закрепления адаптивных приспособлений в чреде поколений у грызунов вагильных (свободно перемещающихся в пространстве) видов (Григоркина, Оленев, 2013).

Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать использованные локусы микросателлитной ДНК в качестве генетических маркеров для анализа радиационно-индуцированных эффектов у грызунов как модельных объектов радиоэкологического мониторинга.

*Работа поддержана Программами фундаментальных исследований УрО РАН (№ № 15-4-2-21 и 15-3-4-49) и грантом РФФИ (№ 14-04-00614).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Gileva E. A., Rakitin S. B., Fokin M. V. et al. Microsatellite DNA variation in Ural bank vole populations // Rus. J. Ecology. 2008. Vol. 39. № 7. P. 544–547.
2. Gockel J., Harr B., Schlötterer C. et al. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Apodemus flavicollis* (Rodentia, Muridae) and *Clethrionomys glareolus* (Rodentia, Cricetidae) // Molecular Ecology. 1997. Vol. 6. № 6. P. 597–599.
3. Barker F.S., Helyar S.J., Kemp S.J. Highly polymorphic microsatellite loci in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) // Molecular Ecology Notes. 2005. Vol. 5. № 2. P. 311–313.
4. Garza J.C., Williamson E.G. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci // Molecular Ecology. 2001. Vol. 10. № 2. P. 305–318.
5. Григоркина Е.Б., Оленев Г.В. Миграции грызунов в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа (радиобиологический аспект) // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. № 1. С. 76–83.

---

## КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ ГЕНЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ В АССОЦИИРОВАННЫХ С ЧЕЛОВЕКОМ БИОЦЕНОЗАХ НА ПРИМЕРЕ МУНИЦИПАЛЬНЫХ СТОЧНЫХ ВОД Г. РОСТОВА-НА-ДОНУ И ТЕХНОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ ОКРЕСТНОСТЕЙ НЧГРЭС

***И.С. Сазыкин, М.А. Сазыкина, И.С. Рынза***

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: issa@sfnu.ru; samara@sfnu.ru; rain7bow@yandex.ru*

Сейчас уже не вызывает сомнения тот факт, что неконтролируемое крупномасштабное использование антибиотиков в медицине и сельском хозяйстве, а также прямое загрязнение продуктами фармацевтической промышленности, сопровождается настоящим «взрывом» образования штаммов как патогенных микроорганизмов, так и комменсалов с приобретенной

единичной и множественной устойчивостью к лекарственным и антисептическим препаратам. Эти гены могут передаваться как вертикально, так и горизонтально – различным, в том числе и неродственным микроорганизмам, в составе самых разнообразных подвижных генетических элементов. Наличие подобного «пула» генов устойчивости позволяет микроорганизмам легко и быстро обходить направленные на их эрадикацию меры, к которым относится применение антимикробных препаратов. Такая опасная ситуация вызвана нерационально широким и неконтролируемым применением антибиотиков в животноводстве и медицине.

Особенно ярко это проявилось в неконтролируемой вспышке новообразованного штамма кишечной палочки – возбудителя энтерогеморрагической диареи и гемолитико-уремического синдрома в Германии и других странах ЕС (2011 г.), приведшей к значительным людским жертвам. За время войны в Ираке США потеряли от внутрибольничных инфекций больше персонала, чем при боевых столкновениях. Ежегодно в странах Европейского союза свыше 25 000 человек умирают от инфекций, обусловленных антибиотикорезистентными бактериями; в США по этой причине ежегодно погибают более 23 000 человек.

Еще одна проблема связана с тем, что если до сих пор полирезистентность была ассоциирована с внутрибольничными инфекциями, то сейчас стали возникать полирезистентные штаммы внебольничных инфекций. Кроме того, появились штаммы, обладающие панрезистентностью, т.е. нечувствительные ни к одному из используемых в данный момент антибиотиков. Не за горами «постантибиотическая эра».

В настоящее время отмечается нарастание антибиотикоустойчивости не только возбудителей заболеваний, но и бактерий природных микробценозов, в том числе водных экосистем. Это определяет актуальность мониторинга резистентности микроорганизмов окружающей среды, в частности, биотопов, находящихся под антропогенным прессингом.

Целесообразно расширить круг исследуемых проблем, связанных с распространением антибиотикорезистентных патогенных микроорганизмов в клинике, включив в него процессы, благодаря которым происходит накопление и обмен генов антибиотикорезистентности среди бактерий в природных экосистемах.

Таким образом, борьба с устойчивостью к антибиотикам требует решения проблемы существования устойчивых микроорганизмов в окружающей среде, и, в первую очередь, биоценозах, ассоциированных с человеком. Частью таких исследований должно стать изучение загрязнения экосистем различными антропогенными стресс-факторами, и их влияние на развитие лекарственной устойчивости микроорганизмов в окружающей среде.

В работе использованы образцы сточных вод, отобранные на очистных сооружениях г. Ростова-на-Дону 05.10.2012, 17.10.2012, 25.10. 2012, 03.12.2012, 27.02.2013, 29.04.2013, 29.05.2013 (до очистки), 08.08.2013 (до и после очистки), кроме того, были исследованы пробы воды из реки Дон (отбор 10.11.2014 и 11.11.2014), рукава Мокрая Каланча (х. Дугино, 05.12.2014). Образцы почвы из окрестностей НчГРЭС были отобраны 27.05.2014 в 13 точках, расположенных согласно розе ветров, на удалении от 1,2 до 20 км. В четырех точках (расстояние от НчГРЭС от 2 до 5 км), также были отобраны образцы донных отложений.

Из проб была выделена тотальная ДНК, которая затем была исследована с помощью метода ПЦР для выявления генов-маркеров резистентности. В работе использованы наборы для выявления генов резистентности к карбапенемам *VIM*, *NDM* и *OXA-48*, цефалоспорином – гены *CTX-M* и *MecA*, гликопептидам – гены *VanA* и *VanB*, эритромицину – ген *ErmB* производства фирмы “Литех” (Москва).

Исследование проб воды на наличие генов резистентности к карбапенемам показало отсутствие в исследованных образцах сточных вод генов *VIM* и *OXA-48*. Гены *NDM* (New Delhi metallo-beta-lactamase), детерминирующие резистентность к бета-лактамам антибиотикам, обнаружены в пробах воды, отобранных на городских очистных сооружениях г. Ростова-на-Дону 27.02.2013, 29.04.2013 и 05.10.2012.

Было показано, что во всех образцах воды отсутствуют полосы, соответствующие генам *CTX-M*, из чего можно сделать вывод об отсутствии данных генов в исследуемых пробах. Также не были обнаружены в пробах сточных вод *MecA* гены.



При исследовании образцов сточных вод на наличие генов *VanA* и *VanB*, было показано, что ряд образцов содержит данные гены. Так, в пробах сточных вод, отобранных на городских очистных сооружениях г. Ростова-на-Дону 08.08.2013, были обнаружены гены *VanB*. В образцах сточных вод, отобранных на городских очистных сооружениях 27.02.2013, 29.04.2013, 05.10.2012, 25.10.2012, были обнаружены оба гена – *VanA* и *VanB*.

Было показано, что в 6 из 8 образцов сточных вод до очистки присутствуют гены, детерминирующие устойчивость к эритромицину. Данные гены были обнаружены в сточных водах, отобранных на городских очистных сооружениях г. Ростова-на-Дону 25.10.2012; 27.02.2013; 29.04.2013; 29.05.2013 и 08.08.2013.

В образцах воды, взятых в нижнем течении реки Дон, исследуемые гены не обнаружены.

При исследовании образцов почв и донных отложений, отобранных в окрестностях НчГР-ЭС, обнаружено наличие генов *CTX-M* в пробах почв, взятых в точках 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 и 12; другие анализируемые гены в почве не обнаружены. В пробах донных отложений исследуемые гены не выявлены.

В результате исследования было показано наличие генов антибиотикорезистентности в образцах сточных вод. Присутствие данных генов носит непостоянный характер, что, вероятно, связано с их периодическим заносом и последующей элиминацией из микробного сообщества вследствие ослабления селективного отбора. Наиболее распространенными были гены резистентности к эритромицину. Попадая в окружающую среду посредством канализации, гены резистентности могут способствовать формированию новых штаммов микроорганизмов, обладающих лекарственной устойчивостью. В пробах почвы обнаружены гены семейства *CTX-M*, не выявленные в пробах воды. Таким образом, для водных и почвенных микробиомов характерны различные гены антибиотикорезистентности.

*Исследование выполнено при поддержке Южного федерального университета, грант № 213.01–07–2014/12ПЧВГ; гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-2449.2014.4).*

---

## **ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ АНТИБИОТИКОВ В МУНИЦИПАЛЬНЫХ СТОЧНЫХ ВОДАХ**

***М.А. Сазыкина, И.С. Сазыкин, М.И. Хаммами, И.С. Рынза***

*Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: samara@sfedu.ru; issa@sfedu.ru; mars@sfedu.ru; rain7bow@yandex.ru*

В последние годы применение антибиотиков стремительно растет, что способствует увеличению их содержания в окружающей среде и накоплению у микроорганизмов большого количества генетических детерминант лекарственной устойчивости, что представляет потенциальную опасность для здоровья людей. Для осуществления контроля за содержанием антибиотиков в окружающей среде необходимо использовать биосенсорные методы [1–3], которые дают возможность оперативно оценивать присутствие в экосистемах веществ антибактериальной природы, провоцирующих возникновение и передачу микробных детерминант резистентности. Сточные воды представляют особую опасность, т.к. в них поступает огромное количество антибактериальных препаратов и микроорганизмов, что способствует возникновению опасных для человека бактериальных штаммов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. В связи с вышесказанным, целью нашей работы стало исследование содержания антибиотиков в сточных водах городов Ростова-на-Дону и Мюнхена.

Материалом исследования служили пробы сточных вод, отобранные в разные сезоны на очистных сооружениях г. Ростова-на-Дону: 17, 24 октября и 3 декабря 2012 г.; 27 февраля,

29 апреля, 29 мая, 8 июля. 2013 г. На очистных сооружениях г. Мюнхена пробы стоков были отобраны в июне 2011 г, 5 октября и 3 декабря 2012 г; 29 мая и 8 июля 2013 г.

Биосенсорный штамм *E. coli* K12 JM83 (pAmpC-lux) использовался для детекции β-лактамовых антибиотиков. Для определения содержания в пробах антибиотиков тетрациклинового ряда были использованы бактериальные lux-биосенсоры *E. coli* MG1655 Z1 (pTet-lux) и *E. coli* K12 AB1157 (pTet-lux). Предел обнаружения вышеуказанных антибиотиков составляет 5 мкг/мл для *E. coli* K12 JM83 (pAmpC-lux), 10 нг/мл для *E. coli* MG1655 Z1 (pTet-lux) и 50 нг/мл для *E. coli* K12 AB1157 (pTet-lux).

Мерой токсичности служил фактор индукции (I), рассчитываемый как отношение биоллюминесценции опытной пробы к биоллюминесценции контрольной пробы. При достоверном отличии опыта от контроля  $I < 2$ , обнаруженный токсический эффект оценивали как «слабый». При  $2 < I < 10$  – как «средний». При  $I > 10$  – как «сильный» эффект.

Тестирование проб сточных вод г. Мюнхена позволило с помощью использованных биосенсоров выявить присутствие антибиотиков тетрациклинового ряда, и лишь в пробе, отобранной в мае 2013 г. ( $I=1,81$ ).

Параллельное исследование сточных вод, отобранных на очистных сооружениях г. Ростова-на-Дону, с помощью lux-биосенсоров на антибиотики тетрациклинового ряда *E. coli* MG1655 Z1 (pTet-lux) и *E. coli* K12 AB1157 (pTet-lux), показало присутствие данного класса соединений в большинстве образцов. Уровень токсического воздействия колебался от слабого до сильного. При помощи биосенсора *E. coli* MG1655 Z1 (pTet-lux) антибиотики тетрациклинового ряда обнаружены более чем в 30 % сточных вод г. Ростова-на-Дону. Зарегистрирован эффект средней силы в пробе сточных вод, отобранных 8 августа 2013 года. ( $I=2,11$ ). Слабый токсический эффект обнаружен в стоках, отобранных 22 октября 2014 г ( $I=1,97$ ) и 27 февраля 2013 г ( $I=1,52$ ). При помощи биосенсора *E. coli* K12 AB1157 (pTet-lux) выявлены сильные токсические эффекты в 45 % исследуемых проб. Эффекты максимальной величины зарегистрированы в стоках, отобранных 5 октября 2012 года ( $I=20,66$ ); 17 октября 2012 г. ( $I=22,1$ ), 23 октября 2012 г. ( $I=8,39$ ), 3 декабря 2012 г. ( $I=24,19$ ).

Ответ биосенсора *E. coli* K12 JM83 (pAmpC-lux), реагирующего на присутствие в среде ампициллина, был зарегистрирован в одной пробе из 9 исследуемых, отобранной 17 октября 2012 года ( $I=1,62$ ).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о систематическом загрязнении городских стоков г. Ростова-на-Дону антибиотиками тетрациклинового ряда. Хроническое загрязнение экосистем антибактериальными препаратами повышает развитие антибиотикорезистентности у бактерий, поэтому необходим строгий контроль за использованием антибиотиков и их содержанием в окружающей среде. Использование бактериальных люминесцентных сенсоров позволит проводить первичный скрининг больших массивов природных образцов с целью детекции антибактериальных веществ.

*Исследование выполнено при поддержке Южного федерального университета, грант № 213.01–07–2014/12ПЧВГ; гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-2449.2014.4).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сазыкина М.А., Сазыкин И.С., Костина Н.В., Хмелевцова Л.Е., Трубник Р.Г., Сазыкина М.И. Исследование экотоксикологических параметров сточных вод г. Ростова-на-Дону и г. Мюнхена // Вода: химия и экология. 2014. № 1. С. 3–10.
2. Сазыкина М.А., Кхатаб З.С., Кудеевская Е.М., Сазыкин И.С. Оценка качества воды родников г. Ростова-на-Дону на основе микробиологических и токсикологических показателей // Вода: химия и экология. 2013. № 1. С. 102–107.
3. Сазыкина М.А., Кудеевская Е.М., Костина Н.В., Сазыкин И.С., Хмелевцова Л.Е., Хаммами И.Х. Исследование динамики загрязнения воздуха г. Ростова-на-Дону генотоксичными веществами с использованием биоллюминесцентных сенсоров // Валеология. 2013. № 3. С. 21–25.

# ИССЛЕДОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕНЗ(А)ПИРЕНА В СИСТЕМЕ ПОЧВА–РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

С.Н. Сушкова<sup>1</sup>, Т.М. Минкина<sup>1</sup>, И.Г. Тюрина<sup>1</sup>, Г.К. Васильева<sup>2</sup>, С.С. Манджиева<sup>1</sup>,  
А.В. Гимп<sup>1</sup>, В.И. Монжоло<sup>1</sup>, А.С. Саламова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, 142290, Российская Федерация, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 2

E-mail: snsushkova@srfedu.ru; tminkina@mail.ru; gkvasilyeva@yandex.ru

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), попадающие на поверхность почвы в виде загрязняющих веществ, в первую очередь вовлекаются в процессы распределения в системе почва–растение и миграции по почвенному профилю. Способность отдельных представителей ПАУ к аккумуляции в растениях и миграции в почве зависит главным образом от сорбционных свойств почвенного матрикса, а также от физико-химических свойств молекул ПАУ (прежде всего водорастворимости) и способности к переходу в почвенный раствор [1]. Индикатором загрязнения объектов окружающей среды ПАУ является бенз(а)пирен (БаП), отличающийся высокой канцерогенностью и генотоксичностью. Его фоновое содержание в растениях и большинстве минеральных почв колеблется в пределах 0,1–5 нг/г, тогда как для некоторых черноземов и торфянистых почв характерен более высокий уровень БаП (15–20 нг/г), что обусловлено повышенным содержанием в них высоко конденсированных органических веществ и специфическим составом почвенной микрофлоры. Комплекс взаимодействия почв и растений является важным объектом контроля загрязнения окружающей среды БаП [2].

В эксперименте использовали почву и растительные образцы, отобранные из верхнего слоя 0–20 см на целинном участке почвенного природного заповедника «Персиановский». Исследуемая почва – чернозем обыкновенный карбонатный среднесиловый малогумусный тяжелосуглинистый на лёссовидных суглинках со следующими характеристиками: содержание физической глины – 52 %, ила – 30 %, гумуса – 4,2 %,  $pH_{вод}$  – 7,5,  $CaCO_3$  – 0,4 %, ЕКО – 33 смоль(+)/кг. Для извлечения ПАУ из почвенных и растительных образцов разработан новый метод субкритической водной экстракции ПАУ из почв, основанный на использовании свойств субкритической воды [3]. В качестве растительного образца для отработки метода использовали целые растения ячменя, выращенного в контрольной фоновой почве в условиях, описанных ниже.

Исследования проводили в условиях вегетационного опыта, который был заложен 15 мая 2011 г. Почву просеивали через сито диаметром 1 мм и помещали по 2 кг в вегетационные сосуды емкостью 4 л. На поверхность почвы вносили раствор БаП в ацетонитриле из расчета создания концентрации загрязнителя в почве 20, 200, 400 и 800 нг/г, что соответствует 1, 10, 20 и 40 ПДК. В качестве контролей использовали исходную почву, а также почву, в которую вносили чистый ацетонитрил. Повторность опыта – трехкратная. Через 1 и 2 г. после начала инкубирования сосуды засеивали тест-культурой. В качестве тест-культуры использовали ячмень яровой сорта «Одесский-100» (*Hordeum sativum distichum*). Перед посевом ячменя (т.е. через 13 и 24 мес.) почву в сосудах перемешивали и отбирали средний образец на анализ. В исходных образцах почвы определяли содержание БаП, а в инкубируемой почве в указанные сроки определяли содержание БаП методом ВЭЖХ с предварительной пробоподготовкой почвенных образцов методом субкритической водной экстракции [3]. Растения ячменя, отобранные из сосудов в фазу полной спелости, тщательно очищали от почвенных частиц, промывали водой, высушивали, взвешивали, растирали, просеивали через сито 1 мм и использовали среднюю пробу на анализ. В них определяли содержание БаП методом субкритической водной экстракции с последующим анализом на ВЭЖХ (Agilent 1260, 2014)

Результаты определения количественного содержания БаП в растениях ячменя и почвах модельного эксперимента, а также степень его деградации в почве через 1 и 2 г. приведены в таблице. В исходно загрязненных почвах обнаруживали от 84 (при 1 ПДК) до 99 % (при 10 ПДК) от внесенного БаП. Через 1 г. концентрация БаП в почве снизилась на 8–33 %, а на 2-й год еще на 5–16 %, или суммарно на 15–38 % за 2 года. Причем степень деструкции БаП возрастала пропорционально увеличению его исходной концентрации в почве от 1 до 40 ПДК. Внесение одного растворителя (контроль с ацетонитрилом) лишь незначительно повлияло на исходное содержание загрязнителя в почве и степень трансформации БаП, а влияние растворителя на содержание БаП в растениях было недостоверным.

Таблица

**Концентрация БаП в почве и растениях ячменя, определенная в исходной почве и через 13 и 24 мес. после начала модельного эксперимента (нг/г), а также степень разложения БаП в почве**

Варианты	Почва					Ячмень	
	содержание БаП, нг/г			степень разложения, %		содержание БаП, нг/г	
	исходная	13 мес.	24 мес.	13 мес.	24 мес.	13 мес.	24 мес.
контроль	24,3 (2,7)	21,8 (3,2)	20,5 (3,1)	10,3 (13,2)	15,6 (12,8)	6,5 (0,4)	1,4 (0,5 )
ацетонитрил	27,6 (3,1)	25,4(3,3)	23,6 (2,9)	8,0 (12,0)	14,5 (10,5)	5,8 (0,7)	1,2 (0,4)
1 ПДК	37,4 (4,3)	31,6(2,8)	27,1 (4,3)	15,5 (7,5)	27,5 (11,5)	15,6 (1,2)	2,9 (0,8)
10 ПДК	221,7 (12,8)	159,1 (6,7)	127,7 (5,7)	28,2 (3,0)	42,4 (2,6)	25,4 (2,1)	3,5 (1,5)
20 ПДК	406,0 (26,4)	320,9 (16,7)	255,6 (17,5)	21,0 (4,1)	37,0 (38,4)	62,4 (3,8)	12,9 (1,7)
40 ПДК	743,4 (31,2)	497,3 (15,1)	458,0 (22,4)	33,1 (2,0)	38,4 (3,0)	61,5 (5,4)	18,3 (2,2)

В конце 1-го и 2-го сезонов в растениях ячменя накапливается БаП в концентрациях 6–62 и 1–18 нг/г, соответственно, причем эти величины также пропорционально увеличиваются по мере возрастания дозы поллютанта (табл.). Сухая масса растений ячменя, выросшего в сосудах, колеблется в пределах 4–8 г., что означает, что вынос БаП из почвы растениями не превышает доли процента, и этот фактор не мог существенно повлиять на скорость снижения концентрации БаП. Отсюда следует, что снижение концентрации поллютанта в почве обусловлено преимущественно микробным разложением загрязнителя.

Таким образом, впервые изучены особенности аккумуляции, миграции и трансформации БаП в системе почва–растения в условиях модельного эксперимента с черноземом обыкновенным карбонатным, загрязненным данным ксенобиотиком. Установлено, что величины накопления БаП в почвах и растениях, как и степень деструкции поллютанта возрастали пропорционально увеличению его исходной концентрации в почве, равной от 1 до 40 ПДК.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Цибарт А.С., Геннадиев А.Н. Полициклические ароматические углеводороды в почвах: источники, поведение, индикационное значение (обзор) // Почвоведение. 2013. № 7. С. 788–802.
2. Яковлева Е.В., Безносиков В.А., Кондратенко Б.М., Габов Д.Н. Закономерности биоаккумуляции полициклических ароматических углеводородов в системе почва–растения биоценозов северной тайги // Почвоведение. 2012. № 3. С. 356–367.
3. Sushkova S.N., Vasilyeva G.K., Minkina T.M., Mandzhieva S.S., Tjurina I.G., Kolesnikov S.I., Kizilkaya Ridvan, Askin Tayfun. New method for benzo[a]pyrene analysis in plant material using subcritical water extraction // Journal of Geochemical Exploration. 2014. № 144. P. 267–272. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.02.018>.

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента РФ № МК-6827.2015.4, проектной части госзадания Министерства образования и науки РФ № 5.885.2014/К, РФФИ № 15–35–21134.

# ФАГОИДЕНТИФИКАЦИЯ БАЦИЛЛ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОРЧУ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

*Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Лыдина,  
И.М. Абдурахманов, Ю.С. Карпова*

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия им. П.А. Столыпина, 432011,  
Российская Федерация, г. Ульяновск, б. Новый Венец, 1  
E-mail: ugsha@yandex.ru

Анализ литературных данных показал, что бактерии *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus (mesentericus)*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium* являются активными продуцентами разнообразных гидролитических ферментов и используют в качестве питательных веществ белки, жиры, углеводы, глюкозиды, спирты и органические кислоты [1–4]. Повышенное содержание бацилл, вызывающих порчу продуктов питания (БВППП) является причиной изменения органолептических свойств сырья, полуфабрикатов и готовых продуктов питания.

Нами были проведены исследования по изучению видового состава бактерий рода *Bacillus*, контаминирующие мясные, молочные продукты и продукты переработки овощей и фруктов. На основе изученных биологических свойств выделенные культуры отнесли к видам *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus (mesentericus)*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*. Время исследования с применением «Ключа для первичной дифференциации бактерий рода *Bacillus*» составило 77 ч. Исследования по схеме выделения и дифференциации бацилл первой морфологической группы составляет 107 ч. Значительные временные и материальные затраты не позволяют применять данные методики в производственных лабораториях, в виду невозможности останавливать технологический процесс производства кондитерских изделий до получения результата бактериологического исследования с ККТ (критической контрольной точки) системы обеспечения безопасности пищевой продукции НАССР.

С целью оптимизации процесса идентификации бацилл, вызывающих порчу продуктов питания, мы использовали специфические бактериофаги, выделенные и селекционированные нами ранее по отработанной методике фагоидентификации [1–4].

На поверхность подсушенного мясопептонного агара в чашках Петри пастеровской пипеткой наносили 3–4 капли бульонной 10-часовой культуры исследуемых микроорганизмов. Нанесенную культуру равномерно распределяли по поверхности среды стерильным шпателем. Чашки ставили в термостат для подсушивания газона культуры на 20–30 минут при 37 °С.

Чашку делили бактериологическим карандашом на шесть секторов. На поверхность засеянной среды, в зоне первого–пятого секторов, пастеровской пипеткой легким прикосновением капли наносили фаги, на шестой сектор в качестве контроля наносили стерильный мясопептонный. Наклоняли чашку, чтобы капли стекли в виде дорожки. Чашки оставляли для подсушивания в боксе на 20–30 мин и помещали в термостат на 18 ч при 37 °С.

Результат исследований считали положительным, если на месте нанесения фагов на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса с возможно вторичным ростом фагорезистентных микроорганизмов или без него, а также рост негативных колоний фага. Отрицательным считали результат – отсутствие лизиса на газоне роста исследуемой культуры микроорганизмов и отсутствие лизиса в контроле. При положительном результате культуру относили к тому виду бактерий, для которого специфичен «сработавший» бактериофаг.

Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения специфических бактериофаговых препаратов с целью типирования бактерий рода *Bacillus*, так как сокращение время исследования и снижение трудозатрат на фоне экономии дорогостоящих питательных сред и реактивов, не снижает качества исследования, что было продемонстрировано нами в данном эксперименте.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Калдыркаев А.И. Разработка системы фаговаров *Bacillus* // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Мат-лы V Междунар. науч.-практ. конф. Ульяновск, 2013. С. 178–185.
  2. Садеева Н.Т., Меркулова Е.В., Феоктистова Н.А. и др. Выделение фагов бактерий вида *Bacillus cereus* // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: Мат-лы V Всерос. (с международным участием) студенческой научной конференции. Ульяновск, 2012. С. 14–17.
  3. Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Меркулов А.В. и др. Перспективы применения бактериофагов рода *Bacillus* // Настоящее и будущее биотехнологии в решении проблем экологии, медицины, сельского, лесного хозяйства и промышленности: научно-практический семинар с международным участием. Ульяновск, 2011. С. 136–139.
  4. Феоктистова Н.А., Калдыркаев А.И., Васильев Д.А. и др. Распространение *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis* в объектах санитарного надзора // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2014. № 1 (25). С. 68–76.
- 

## ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ИНФОРМАЦИОННЫЕ СИСТЕМЫ В ЭПИДЕМИОЛОГИИ

*А.Б. Хайтович, А.Л. Ситникова*

*Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295087, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7  
E-mail: khaytovych@rambler.ru*

Традиционные способы оценки эпидемиологической информации трудоемки и сложны. Внедрение офисных систем и программных комплексов при изучении эпидемических процессов облегчили создание баз данных, их статическую обработку, визуализацию в виде графиков, диаграмм и др. Однако современная эпидемиология требует дополнительных методологических подходов для проведения анализа данных, поскольку на эпидемический процесс сильное влияние оказывают общемировые процессы: глобализация, урбанизация, изменения климатических условий, интенсификация миграционных процессов, увеличения скорости передвижения населения и грузов. Поэтому в последние десятилетия для изучения эпидемиологического процесса активно внедряются новые методы обработки информации, повышающие их точность и наглядность, одним из которых являются географические информационные системы (ГИС), которые предназначены для сбора, хранения, анализа и графической визуализации пространственных данных и информации о представленных объектах (процессах).

Более 15 лет нами успешно используется ГИС в эпидемиологии (эпидемиологическом надзоре, эпидемиологическом анализе, эпидемиологической диагностике, определении эпидемиологических рисков и т.д.), что позволяет утверждать, что ГИС – это современный инструмент, который необходимо использовать в медицине и эпидемиологии, в частности. В результате проведенных исследований определены основные функции ГИС, которые эффективно могут использоваться в повседневной практической работе и в научных исследованиях:

- управление пространственными данными – интеграция и редактирование различных видов информации с привязкой их к поверхности Земли;
- визуализация данных – создание карт распространения явления в пространстве и времени;
- пространственный анализ – способность обрабатывать данные различными методами, которые используются в медицине, географии, статистике и других направлениях;

- наложение – совмещения географического слоя и интегрированных результатов других слоев, в том числе и созданных новых по различным факторам и событиям;
- анализ близости – создание буферных зон вокруг объектов с указанием их размера и соединение с данными, полученными при эпидемиологическом анализе и статистическим показателям для изучения события в пределах указанного радиуса;
- анализ «Расположение–Распределение» – расположение объектов, которые могут влиять на распределение явлений (выявление или регистрация случаев заболевания, близость и возможность контакта с природными очагами, доступность клинической и лабораторной диагностики и др.);
- исследовательский пространственный анализ – выявление «необычных» пространственных структур, позволяющих сформулировать гипотезы для проведения будущих исследований;
- пространственное статистическое моделирование – количественное представление пространственных данных и подбор модели пространственной зависимости, что позволяет идентифицировать пространственно-временные кластеры или «горячие точки» заболевания, риска инфицирования и др.;
- пространственная интерактивная модель – анализ и прогнозирование перемещения людей, сельскохозяйственных животных, информации, товаров и др. между районами, селами, городами и странами (определение формы пространственного распространения инфекционных заболеваний, выявление территорий наиболее подверженных риску передачи болезней для планирования противоэпидемических мероприятий);
- пространственно-диффузионная модель – распространение явлений в пространстве и во времени (определить вектор распространения заболевания).

За период использования ГИС (программа ArcGIS, версии (9.1 и 9.2, лицензионный номер E 300 3/02, ESRI, США) в цикле исследований, начатых с 1998 г., проведены оценка эпидемиологического процесса (свидетельство о регистрации авторского права № 11194 от 28.09.2004 Министерства образования и науки Украины на «Систему мониторинга в эпидемиологии при помощи географической информационной технологии»): холеры, чумы, сибирской язвы, лептоспироза, клещевого энцефалита, птичьего гриппа A/H5N1 и A/H7N9, крымской геморрагической лихорадки, туляремии, лихорадки Западного Нила, болезни Лайма, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и других инфекций на различных административных территориях в мире, Украине и в Крыму, а также составлен атлас «Состояние здоровья населения Автономной республики Крым» (регистрация авторского права № 6716 от 04.12.2002 Министерства образования и науки Украины).

---

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА МИНЕРАЛИЗАЦИИ ПОЧВЫ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* И ХИМИЧЕСКОГО ФУНГИЦИДА**

*Е.В. Хархун, А.В. Полякова, В.Г. Хочхарян*

*Южный федеральный университет, 344006, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону,  
ул. Большая Садовая, 105  
E-mail: evharhun@sfedu.ru*

Аэробные неспорообразующие грамотрицательные бактерии рода *Pseudomonas* активно исследуются как объекты биологической борьбы с бактериальными и грибными заболеваниями сельскохозяйственных культур [1].

Структура микробоценоза, соотношение между различными эколого-трофическими группами, является более устойчивым и показательным критерием, по сравнению с отдельными количественными характеристиками, поскольку отражает функциональные связи внутри микробного сообщества.

Поэтому целью настоящей работы было определение коэффициента минерализации почвы после применения экспериментального биопрепарата на основе *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* и химического фунгицида.

Экспериментальные партии биопрепарата получали глубинным культивированием бактерий псевдомонад в колбах при температуре 27 °С в течение 2 суток на двух оптимизированных питательных средах: № 1 и № 2. Титр готового бактериального препарата составлял  $6,0 \pm 0,08 \cdot 10^9$  кл/мл. Изучали эффективность следующих форм биологических препаратов: жидкая форма 1, жидкая форма 2, торф 1, торф 2, вермикулит 1, вермикулит 2, перлит 1 и перлит 2. В формах биологического препарата, таких как жидкая форма 1, торф 1, перлит 1 и вермикулит 1, культуру псевдомонады выращивали на питательной среде № 1, а в остальных экспериментальных формах – на среде № 2. Семена обрабатывали биопрепаратом в норме 1 л/т. В качестве химического фунгицида был взят «Дивиденд стар», вносился в соответствии с рекомендованными нормами расхода.

Отбор образцов почвы производился на глубине 0–20 см (верхний слой) в летний период, после покоса ячменя, по методу «конверта». Исследованию подвергались объединенные (интегральные) пробы. Коэффициент минерализации-иммобилизации азота рассчитывался по соотношению бактерий, использующих минеральные формы азота (растущие на крахмало-аммиачном агаре) и бактерий, использующих органические формы азота (растущие на мясо-пептонноагаре) по формуле:  $K_{мин} = K_{АА} / M_{ПА}$ . Количество бактерий определяли путем поверхностного посева на среды из разведений  $10^{-4}$ – $10^{-5}$  [2].

Численность микроорганизмов, утилизирующих минеральный азот, превышала число аммонификаторов, что свидетельствует об активизации процессов минерализации органических соединений. Это подтверждается величиной коэффициента микробиологической минерализации (рис.).

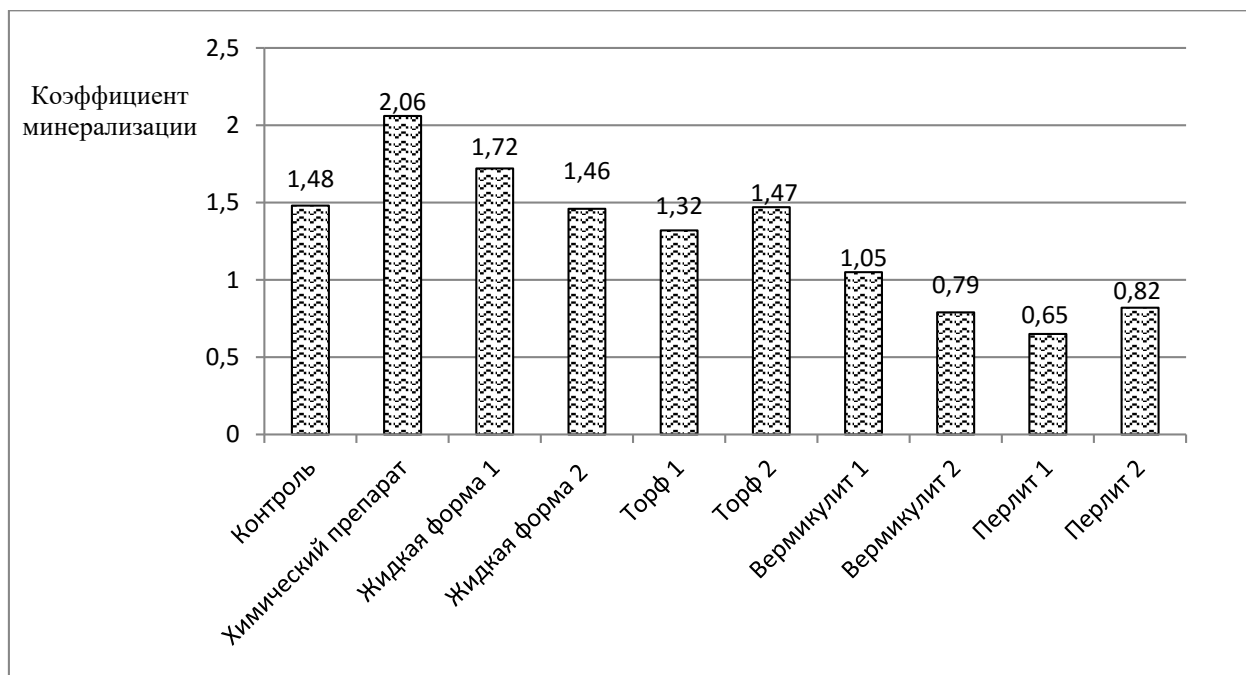


Рис. Величина коэффициента минерализации в почве



Наименьшая интенсивность процессов минерализации наблюдалась в почве после применения биопрепаратов на основе перлита на двух средах и вермикулита на основе среды 2. В этих вариантах данный показатель оставался на уровне ниже единицы, что свидетельствует о том, что их применение снижает интенсивность процессов минерализации в почве и является показателем аккумуляции органического вещества, в том числе в виде гумуса. Активация же процессов минерализации органического вещества выявлена в варианте «Химический препарат», где наблюдался самый высокий показатель коэффициента минерализации (2,06).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Боронин А.М., Кочетков В.В. Биологические препараты на основе псевдомонад // АГРО XXI. 2000. № 3. С. 140–151.
2. Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия. 2005. 602 с.

---

## БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ПАУ В ПОЧВАХ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ ИМПАКТНОЙ ЗОНЫ НОВОЧЕРКАССКОЙ ГРЭС

Л.Е. Хмелевцова, И.С. Сазыкин, Е.А. Мирина, Е.Л. Майоров, М.А. Сазыкина

*Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: lehmelevcova@sfedu.ru; issa@sfedu.ru; lenmir@sfedu.ru; maiorov\_100@mail.ru; samara@sfedu.ru*

ОАО «Новочеркасская ГРЭС» (НчГРЭС) – одна из крупнейших тепловых электростанций России, основной источник выбросов загрязняющих веществ в Ростовской области [1]. В выбросах НчГРЭС присутствуют зола, сернистый ангидрид, оксид азота, фтористый водород, а также техногенные полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), являющимися продуктами сгорания органического топлива [2].

ПАУ – огромный класс органических соединений, химическая структура которых включает два и более конденсированных бензольных кольца [3]. ПАУ широко распространены в окружающей среде, устойчивы к деградации, способны аккумулироваться почвой и осадками, обладают токсическими, мутагенными и канцерогенными свойствами [4]. Основную роль в деградации этих соединений играют микробные популяции [5]. Известно, что ряд микроорганизмов способен использовать ПАУ как источник углерода и энергии и трансформировать их [6]. Однако для микрофлоры почвы углеводороды выступают, с одной стороны, как источник углерода, а с другой, – как загрязняющие вещества с токсичными свойствами. Соответственно, их поступление в почву может как стимулировать, так и угнетать жизнедеятельность микроорганизмов. При избыточном поступлении поллютантов происходит резкое снижение видового разнообразия и смена состава сообщества, активно развиваются устойчивые к высоким концентрациям углеводородов популяции микроорганизмов. В этом случае негативный эффект от загрязнения почвы приводит к полному изменению доминирующих форм в микробном сообществе. В связи с этим актуальной задачей является выделение, культивирование и идентификация микроорганизмов, обитающих в почвах окрестностей Новочеркасской ГРЭС, с целью изучения структуры и биоразнообразия микробного сообщества загрязненных ПАУ территорий.

Образцы почв отбирали в 13 точках в окрестностях Новочеркасской ГРЭС. В четырех точках также были отобраны образцы донных отложений. Выделение и культивирование ПАУ-деградирующих микроорганизмов проводилось на жидкой и агаризованной минеральной среде,

в которую в качестве источника углеводов вносили насыщенный раствор нафталина и антрацена в смеси: гексадекан-50 %, бензол-25 %, циклогексан-25 %. Идентификация ПАУ-деградирующих микроорганизмов проводилась путем масс-спектрометрического анализа с использованием масс-спектрометра MALDI Biotyper, а также путем секвенирования 16S рибосомальной РНК.

Изучение ПАУ-деградирующих микроорганизмов окрестностей Новочеркасской ГРЭС показало, что в каждой точке отбора наблюдается невысокое разнообразие культивируемых форм с преобладанием 1–2 родов (видов). В одной точке отбора не удалось идентифицировать род и вид микроорганизмов, вероятно, в связи с отсутствием информации о масс-спектре их белков в базе данных.

Доминирующим видом ПАУ-деградирующих микроорганизмов в почвах окрестностей Новочеркасской ГРЭС является *Rhodococcus erythropolis* (обнаружен в 9 точках отбора из 13). В двух пробах почвы, кроме *Rhodococcus erythropolis*, были выделены актинобактерии *Oerskovia turbata*. В остальных пробах почв преобладающими видами являлись *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter polychromogenes*, *Arthrobacter sulfonivorans*, *Isoptericola sp.*

В пробах донных отложений доминирующими микроорганизмами являлись различные виды рода *Pseudomonas*: *Pseudomonas koreensis*, *Pseudomonas brassicacearum*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas putida*.

Не было выявлено зависимости видового разнообразия штаммов-деструкторов ПАУ от места нахождения точки отбора – с подветренной и наветренной сторон ГРЭС состав микробиоценоза деструкторов был примерно одинаков.

Необходимо отметить, что речь идет о культивируемых формах микроорганизмов. Изучение микробиоценоза загрязненных ПАУ территорий другими методами, например, методами метагеномного анализа, способно дать более широкое представление о видовом составе данного сообщества. Это, несомненно, представляет большой интерес и является предметом дальнейших исследований в этой области.

*Исследование выполнено при поддержке Южного федерального университета, грант № 213.01–07–2014/12ПЧВГ*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Экологический паспорт г. Новочеркаска. Отчет о результатах крупномасштабных геохимических и радиометрических исследований экологической обстановки г. Новочеркаска. Новочеркасск, 1995. 178 с.
2. Экология Новочеркаска. Проблемы, пути решения // Под ред. Н.В. Белоусовой: Ростов н/Д: Изд-во СКНЦВШ, 2001. С. 391–393
3. Геннадиев А.Н., Козин И.С., Шурубор Е.И., Теплицкая Т.А. Динамика загрязнения почв полициклическими ароматическими углеводородами и индикация состояния почвенных экосистем // Почвоведение. 1990. № 10. С. 75–85.
4. Kanaly R.A., Harayama S. Advances in the field of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation by bacteria // Microb Biotechnol. 2010. Vol. 3(2). P. 136–164.
5. Киреева Н.А. и др. Микробиологическая рекультивация нефтезагрязненных почв. М.: ОАО «ВНИИО-ЭНГ», 2001. 40 с.
6. Киреева Н.А. Биодеструкция нефти в почве культурами углеводородокисляющих микроорганизмов // Биотехнология. 1996. № 1. С. 51–54.

## ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ микро-РНК В ОКРЕСТНОСТЯХ ГЕНОВ СУПРЕССОРОВ ОПУХОЛЕЙ

*Е.В. Бутенко, Д.Е. Романов, Г.Н. Реброва, З.Г. Попова*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского,  
344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: evbutenko@sfedu.ru; rdme@yandex.ru*

Последовательности, гомологичные микро-РНК, широко распространены в геноме человека, как в кодирующей, так и в некодирующей его части [1]. Однако предполагать функциональную значимость микро-РНК для определенного гена можно только при наличии в его последовательности сайта связывания данной микро-РНК. Межгенные участки генома, будучи структурно связанными с близлежащими генами, содержат, в том числе, регуляторные элементы, одними из которых могут быть сайты связывания микро-РНК. Изучение механизмов микро-РНК регуляции онкогенов и опухолевых супрессоров является актуальным для дальнейшей разработки терапевтических средств генной и таргетной терапии злокачественных новообразований. В связи с этим целью данного исследования послужил биоинформационный поиск сайтов связывания микро-РНК в окрестностях десяти генов опухолевых супрессоров.

Объектом исследования послужили нуклеотидные последовательности межгенных пространств генома человека, расположенные в окрестностях десяти генов супрессоров опухолей (*APC; BRCA1; BRCA2; CDKN2A; DCC; MEN1; NF1; NF2 PTEN; RB1; TP53; VHL; WT1*). Полные последовательности были получены из базы данных NCBI с помощью E-utilities API. Последовательности микро-РНК были получены из базы данных miRBase выпуск 21. Поиск сайтов связывания микро-РНК был выполнен при помощи комбинации программ MiRanda и GLAM2Scan.

Изученные некодирующие последовательности ДНК, расположенные вокруг 10 генов супрессоров опухолей содержали 3625 сайтов связывания 237 зрелых микро-РНК. Около 65 % обнаруженных сайтов связывания были расположены внутри последовательностей Alu-элементов, и поэтому, скорее всего, не могут считаться функциональными. Это связано с тем, что после транскрипции Alu-элементы приобретают плотную вторичную структуру, которая ограничивает доступ ферментов, обеспечивающих процессинг и функционирование микро-РНК [2]. Сайты связывания miR-5684, miR-566, miR-4478, miR-1972, miR-4486 и miR1268a были обнаружены в исследованном участке генома более, чем в 20 копиях, но не входили в состав Alu-элементов. Данные микро-РНК могут иметь функциональное значение в процессах канцерогенеза и являются перспективными для дальнейшего экспериментального изучения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Butenko E.V., Romanov D.E., Pshenichnyj E.A., Shkurat T.P.* Bioinformatics analysis of mature mi-RNA motifs distribution in tumor suppressor genes surroundings // *European Journal of Human Genetics*. 2015. Vol. 23. S. 1. P. 237.
2. *Hoffman Y., Dahary D., Bublik D.R., Oren M., Pilpel Y.* The majority of endogenous microRNA targets within Alu elements avoid the microRNA machinery // *Bioinformatics*. 2013. Vol. 29. № 7. P. 894–902.

*Работа выполнена в рамках базовой части внутреннего гранта Южного федерального университета в 2015 году по проекту 213.01–2015/003ВГ «Изучение ДНК-элементов некодирующих белок в структуре различных геномов».*

# ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МОТИВОВ ЗРЕЛОЙ микроРНК ВОКРУГ И ВНУТРИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАЗВИТИЕМ АТЕРОСКЛЕРОЗА

*Е.Г. Деревянчук*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: biolab2008@yandex.ru*

Экспрессия микроРНК тканеспецифична и может изменяться при различных патологиях, включая сердечно-сосудистые заболевания, такие как атеросклероз. Мы провели биоинформационный анализ распределения мотивов зрелых микроРНК в межгенных пространствах и внутри следующих генов *APOB*, *LIPC*, *LPL*, *SCARB1*, *MMP9*, *PPARG* и *ENPP1*. Последовательности были получены из базы данных NCBI и miRBase с использованием E-utilities API. Поиск мотивов был выполнен с помощью программного пакета MEME Suite. Результаты отфильтрованы с учетом степени гомологии мотивов 85 %.

Преобладающий тип и плотность распределения мотивов варьировали от гена к гену. Наиболее часто встречающимися были мотивы, гомологичные hsa-mir-619, hsa-mir-1273g, hsa-mir-5096 и hsa-mir-5095. Данные микроРНК были названы уникальными, так как мы установили, что они способны связываться с большим количеством генов. Интересен тот факт, что все изученные уникальные микроРНК чаще всего имели сайты связывания в кодирующих областях *SCARB1*, *PPARG* и *LIPC*, а также после *SCARB1* гена. Ген *SCARB1* кодирует белок SC-BI, который является рецептором липопротеинов высокой плотности. Продукт гена *PPARG* регулирует дифференцировку адипоцитов, а также метаболизм липидов и чувствительность к инсулину. *LIPC* кодирует липазу триглицеридов печени, которая экспрессируется в печени. Полиморфизмы всех трех генов являются независимыми факторами риска развития атеросклероза.

В заключении хотелось бы отметить, что исследованные уникальные микроРНК являются координаторами экспрессии генов, которые участвуют во многих биологических процессах, в частности генов, ассоциированных с развитием атеросклероза. Результаты могут быть использованы для разработки новых целей атеросклеротической диагностики и терапии.

*Исследование было выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 15–15–10022.*

---

## ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА РЕШЕНИЕ КОГНИТИВНЫХ ЗАДАЧ

*Н.Е. Дунина, К.А. Мороз*

*Донской государственный технический университет, 344000, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1  
E-mail: Nell16.12@yandex.ru, leramoroz@mail.ru*

Внешние условия окружающей среды могут довольно сильно влиять на выполнение поставленной умственной задачи человеком. Ведь каждый человек эмоционально восприимчив ко внешним факторам. Цель нашего исследования заключалась в изучении результатов решения когнитивных задач (таких как, счет в обратном порядке, запоминание слов) здоровых испытуемых при различных внешних факторах:

- спокойствие (в процессе выполнения поставленных задач в помещении соблюдалась полная тишина, тем самым обеспечивалась сосредоточенность на решении поставленных задач);
- благоприятный фактор (решение задач происходило параллельно с прослушиванием музыки, которая нравится конкретному испытуемому);
- раздражающий фактор (поставленные задачи решались в сопровождении музыкальных композиций, которые раздражают испытуемого).

Параллельно с выполнением поставленных когнитивных задач у испытуемых проводилась запись электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Данное исследование было проведено на кафедре биологической и медицинской физики РостГМУ при помощи прибора «Энцефалан-131–03». В исследовании участвовали пятнадцать здоровых юношей, обучающихся в ВУЗах. Нами была выполнена оценка результатов ЭЭГ и проанализирована зависимость биоэлектрической активности головного мозга человека в процессе решения поставленных когнитивных задач под воздействием различных факторов внешней среды. Обработка данных была произведена средствами пакета прикладных программ MATLAB с помощью спектрального и кросскорреляционного анализа.

В ходе анализа ЭЭГ было выявлено изменение ритмов с преобладанием бета-ритма во время возникновения раздражающего и благоприятного факторов, в отличии от спокойного фактора. Также наблюдалась асимметрия головного мозга с преобладанием активности спектров на левом полушарии. После проведения всего исследования и выявления среднего результата по качеству и скорости решения можно сказать следующее:

- при спокойном внешнем факторе испытуемые решали верно четыре из восьми задач, затрачивая на выполнение задания четыре минуты;
- во время действия благоприятного внешнего фактора испытуемый решал шесть задач верно, а потраченное время составляло три минуты;
- под воздействием негативного внешнего фактора верно решено было три задачи, время выполнения задания – три с половиной минуты.

Таким образом можно сделать вывод, что благоприятный внешний фактор положительно влияет как и на эмоциональное состояние человека, так и на его способность принимать правильное решение.

---

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОВОКАЦИОННЫХ ПРОБ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ МЕТОДА КАРДИОИНТЕРВАЛОМЕТРИИ С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ ПОДХОДОВ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА**

*К.С. Караханян, В.П. Омельченко, А.А. Демидова*

*Ростовский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ,  
344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29  
E-mail: kara\_008@mail.ru*

Целью работы явилось изучение чувствительности стандартных методов временного и частотного анализа, и показателей нелинейной динамики в оценке вариабельности сердечного ритма (ВСР) у больных с нарушением толерантности к глюкозе (НТГ) и сахарным диабетом (СД) 2-го типа на фоне автономной кардиальной нейропатии (АКН) при проведении провокационных вегетативных проб. Обследовано 65 больных АГ с нарушением толерантности к глюкозе (НТГ) и 65 больных АГ и СД 2-го типа, осложненного АКН.

В контрольной группе после пробы наблюдали падение общей мощности спектра на 23,6 %, возрастание мощности LF компоненты на 38,7 %, уменьшение мощности HF компоненты на 57,7 % и увеличение отношения LF/HF в 3,1 раза. Такая динамика свидетельствовала об усилении симпатического влияния на сердце при ортостазе.

У больных двух клинических групп после пробы происходило резкое снижение общей мощности спектра, уменьшение мощности как LF, так и HF компоненты. При этом отношение LF/HF несколько повышалось, что свидетельствовало о большем угнетении при пробе парасимпатического отдела ВНС, нежели симпатического.

В контрольной группе после пробы наблюдали падение общей мощности спектра на 29,2 %, возрастание мощности LF компоненты на 50,9 % и увеличение отношения на 41,7 %. При этом, уменьшения мощности HF практически не наблюдалось.

У больных двух клинических групп после пробы происходило снижение как общей мощности спектра, так и мощности LF и HF компоненты. При этом отношение LF/HF несколько повышалось. Следовательно, функциональные резервы парасимпатической нервной системы были исчерпаны. На этом фоне при выполнении пробы с изометрической нагрузкой наблюдалось относительное преобладание симпатических влияний на сердце.

Таким образом, проведение провокационных вегетативных проб с оценкой динамики спектральных показателей ВСП при диабетической кардионейропатии выявило истощение функциональных резервов парасимпатической нервной системы, снижение активности симпатической нервной системы по сравнению с исходным состоянием, но относительное преобладание симпатических влияний на сердце по сравнению с парасимпатическими.

В результате применения методов нелинейной динамики было установлено, что в спектре мощности кардиоинтервалограммы у больных АГ с НТГ и у пациентов с СД 2-го типа, осложненного АКН, доля непериодических хаотических компонентов, имеющих фрактальную природу, составляла, соответственно, 66 и 87 %. У больных АГ с НТГ показатель FrD сердечного ритма находился в интервале 1,0–1,3, в среднем составив  $1,09 \pm 0,002$ . При АГ и СД 2-го типа происходило снижение фрактальной размерности кардиоинтервалограммы, что свидетельствовало об усилении непериодической хаотической компоненты кардиоинтервалограммы. Так, показатель FrD сердечного ритма колебался в диапазоне 0,70–1,0, в среднем составив  $0,92 \pm 0,002$ . Снижение FrD у больных АГ и СД 2-го типа сочеталось с усилением влияния симпатических нервов на сердце. При проведении провокационных вегетативных проб показатель фрактальной мощности снижался: у больных АГ и НТГ с  $1,09 \pm 0,002$  до  $0,88 \pm 0,002$ , у пациентов с АГ и СД 2-го типа с  $0,92 \pm 0,002$  до  $0,66 \pm 0,001$ . Процент снижения FrD у больных АГ и СД 2-го типа был выше, чем у пациентов с АГ и НТГ (18,4 и 26,6 %, соответственно). То есть, проведение провокационных вегетативных проб сопровождалось увеличением хаотических свойств сердечного ритма, более выраженным при усилении патологии углеводного обмена. Чем более выраженным было ослабление парасимпатических модуляций сердечного ритма и повышение симпатического тонуса в условиях проведения проб, тем выше был удельный вес хаотической перестройки сердечного ритма.

Таким образом, применение методов нелинейной динамики позволяет повысить информативность кардиоинтервалометрии при оценке функционального состояния сердечно-сосудистой системы у больных АГ на фоне НТГ либо диабетической АКН. Использование провокационных проб при кардиоинтервалометрии расширяет возможности выявляемости ранних нарушений ритмогенеза в сердце у больных АГ на фоне НТГ либо диабетической АКН. Разработка способов проведения функционального тестирования при кардиоинтервалометрии и адекватного статистического аппарата переходных процессов создает основу для повышения диагностической чувствительности и специфичности методики кардиоинтервалометрии.

# КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Е.А. Кижеватова, В.П. Омельченко*

*Ростовский государственный медицинский университет, кафедра медицинской и биологической физики, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29  
E-mail: alyonatim@mail.ru, vitya.omelchenko@mail.ru*

С XIX века интерес к исследованиям биоэлектрической активности головного мозга стремительно увеличивается, как и возрастает внимание к изучению нарушений когнитивных функций головного мозга. В настоящее время при диагностировании энцефалопатии и при установлении наличия когнитивных нарушений у пациентов врачам, зачастую, приходится прибегать к дифференциальной диагностике дисциркуляторной энцефалопатии и мнестических расстройств другой этиологии, используя дополнительные методы диагностики. Однако до сих пор не разработаны единые подходы в дифференциальной диагностике когнитивных нарушений мозга при дисциркуляторной энцефалопатии, иных заболеваниях и нормальной интеллектуальной деятельности головного мозга.

Таким образом, цель данного исследования – демонстрация возможностей современных информационных технологий. А также повышение информативности электроэнцефалографического исследования у больных с дисциркуляторной энцефалопатией.

Исследование проводили на базе кафедры медицинской и биологической физики РостГМУ при помощи прибора «Энцефалан-131-03» (г. Таганрог), обработку данных осуществляли при помощи программ Statistica 6.0 и Excel 2007. В исследовании приняли участие 60 человек: группа больных с дисциркуляторной энцефалопатией (ишемией головного мозга) (30) человек и контрольная группа здоровых лиц (30) человек. Средний возраст испытуемых 50–60 лет.

По результатам исследования были созданы дискриминантные функции для каждой группы, благодаря которым стало возможно проводить дифференциацию пациентов в зависимости от полученных характеристик их ЭЭГ.

Было выявлено, что для функции теста «Растения» наиболее значимыми оказались альфа, бета- и тета-ритмы в лобных отведениях, для функции теста «Слова» (аудиальное предъявление) -альфа- и бета-ритмы в лобных, височных и центральных отведениях, для функции «Фон Открытые глаза» (фон ОГ) – альфа- и тета-ритмы в центральных и затылочных отведениях, для функции «Фон Закрытые глаза» (фон ЗГ) – альфа- и тета-ритмы в лобных отведениях.

В ходе нашего исследования экспериментально были получены диапазоны значений функций для больных с ишемией головного мозга (дисциркуляторной энцефалопатией ДЭ) и здоровых пожилых, с которыми следует сравнивать показатели каждого пациента, которому проводится описанная выше диагностическая процедура (табл.).

*Таблица*

**Интервалы значений дискриминантных функций для больных ДЭ  
и когнитивно здоровых лиц**

Тест	Группа	Интервал	
		НГ	ВГ
Растения	Здоровые	2673,6	2808,7
	Больные ДЭ	-2743,1	-2676,6
Слова	Здоровые	479,1	526,4
	Больные ДЭ	261,2	316,6
Фон ОГ	Здоровые	391,4	504,4
	Больные ДЭ	73,7	156,3
Фон ЗГ	Здоровые	96,8	168,4
	Больные ДЭ	52,4	91,5

В случае, если интервалы значений тестов «Растения», «Слова», «Фон ОГ» и «Фон ЗГ» во всех четырех случаях относятся к одной группе и попадают в интервалы для больных ДЭ, испытуемого относят к группе лиц с хронической ишемией мозга, если в интервалы, полученные при обследовании контрольной группы – к группе здоровых лиц, при невыполнении ни одного из этих условий – к группе лиц с когнитивными расстройствами иного происхождения.

Предлагаемый способ позволяет повысить точность дифференциальной диагностики сосудистых и других когнитивных расстройств и улучшить результаты их ранней диагностики при минимальном объеме параклинических методов исследований. Полученные результаты при условии расширения эксперимента могут быть дополнены и служить одним из диагностических критериев когнитивного здоровья.

---

## **ДВА ТИПА НЕЛИНЕЙНОЙ ДИНАМИКИ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММ БОЛЬНЫХ НЕВРАЛГИЕЙ ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА**

***И.О. Михальчик, В.П. Омельченко***

*Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, кафедра медицинской и биологической физики, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29  
E-mail: irisa-irisa@bk.ru: vitaly.omelchenko@mail.ru*

Целью нашего исследования стало выявление существенных различий нелинейно-динамических свойств биоэлектрической активности головного мозга больных невралгией тройничного нерва (тригеминальная невралгия, НТН) и здоровых испытуемых. Для этого при помощи аппаратно-программного комплекса Энцефалан-131–03 фирмы Медиком МТД (г. Таганрог, Россия) были записаны электроэнцефалограммы (ЭЭГ) 15 больных НТН и 15 здоровых пациентов. После удаления артефактов отрезки нативных ЭЭГ длительностью 8192 отсчета ( $\approx 0,5$  минуты) были подвергнуты нелинейному анализу. Для этих целей использовалась программа VRA (автор – Евгений Кононов). Для каждого отведения ЭЭГ всех испытуемых были рассчитаны время задержки  $\tau$  и размерность вложения  $m$ . На основе этих результатов были построены рекуррентные диаграммы для наглядной демонстрации нелинейных свойств ЭЭГ-сигналов в норме и при патологии.

В результате исследования группа больных НТН показала свою неоднородность и была поделена на две подгруппы. У 5 пациентов с диагнозом НТН преимущественной тенденцией стало значительное увеличение временной задержки относительно того же показателя в группе здоровых обследуемых – в среднем 18,2 у больных первой подгруппы против 9,1 у здоровых. Значимые различия  $\tau$  ( $p < 0,05$ ; здесь и далее значимость различий показателей исследуемых групп выявлялась при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни) наблюдались преимущественно в затылочных, центральных и теменных отведениях. У больных этой же подгруппы наблюдалось значимое ( $p < 0,05$ ) снижение размерности вложения в среднем с 9,8 у здоровых до 7,7 у больных. На рекуррентных диаграммах (РД) ЭЭГ больных первой подгруппы присутствуют ярко выраженные диагональные полосы, свидетельствующие о периодичности наблюдаемого процесса. На РД здоровых испытуемых диагональные структуры выражены гораздо слабее, они не такие четкие и протяженные.

У остальных 10 больных НТН (будем называть их второй подгруппой) наблюдалась обратная тенденция изменений нелинейно-динамических показателей – уменьшение времени задержки



в среднем до 6,6 и увеличение размерности внедрения до 17,9. Значимые различия наблюдались преимущественно в отведениях левого полушария со сдвигом к затылку, значимые различия размерности вложения наблюдались практически во всех отведениях (кроме О1-А1, С3-А1 и F7-А1). На РД ЭЭГ больных данной подгруппы диагональных полос практически не наблюдалось.

Как известно, размерность вложения  $m$  определяет число независимых координат, минимально необходимых для полного описания динамики системы, т.е. чем выше  $m$ , тем более сложным и хаотичным является исследуемый процесс. Поскольку обнаружены двоякие изменения размерности вложения при НТН (снижение в 1-й подгруппе и рост во 2-й), можно заключить, что как чрезмерное усложнение и хаотичность ЭЭГ (о чем свидетельствует возрастание размерности внедрения), так и упрощение и излишняя периодичность биоэлектрической активности мозга, могут свидетельствовать о нарушении в деятельности головного мозга. Рекуррентные диаграммы наглядно подтверждают выводы о двояких изменениях нелинейной динамики ЭЭГ при НТН – наблюдается излишняя периодичность ЭЭГ у больных первой подгруппы и практически полное отсутствие периодической компоненты ЭЭГ у второй. В норме (у здоровых испытуемых) в ЭЭГ присутствует некоторая доля периодичности в виде веретен альфа-ритма, что подтверждается наличием диагональных полосок на РД.

Обнаруженные различия показателей нелинейной динамики внутри группы больных НТН можно связать с наличием двух механизмов формирования заболевания: центрального и периферического. Известно, что при центральном механизме генеза НТН в головном мозге формируется очаг-генератор патологической импульсации, что характеризуется упрощением и периодизацией ЭЭГ, наличием в ней медленноволновой периодической составляющей. Можно предположить, что именно к этому типу и относятся больные из первой подгруппы в нашем исследовании. Периферический тип формирования тригеминальной невралгии, наоборот, предполагает активацию и рассинхронизацию ЭЭГ, что и проявилось при исследовании нелинейных свойств биоэлектрической активности головного мозга больных второй подгруппы.

---

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЭГ ПАЦИЕНТОВ С ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ МЕТОДОМ МНОГОМЕРНОГО ШКАЛИРОВАНИЯ

*К.А. Мороз<sup>1</sup>, А.И. Новикова<sup>1</sup>, Е.А. Кижеватова<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Донской государственный технический университет, 344010, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1*

*<sup>2</sup>Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29*

*E-mail: leramoroz@mail.ru; novikova.anna@yandex.ru; alyonatim@mail.ru*

Электроэнцефалограмма (ЭЭГ) отражает сложную структуру биоэлектрической активности головного мозга, позволяя оценить его функциональное состояние. ЭЭГ здоровых людей характеризуется картиной, соответствующей гармоничному протеканию нервных процессов в мозге. Под влиянием патологического процесса ЭЭГ изменяется, однако информативность этого метода обследования считается невысокой. Объяснить это можно сложностью ЭЭГ-сигнала: при мониторинге состояния мозга приходится учитывать множество взаимосвязанных показателей. По мере совершенствования программного обеспечения компьютерной диагностики, наряду

с общепринятыми математическими методами обработки биосигналов, перспективно применение многомерных статистических методов, позволяющих получить отсортированную информацию из большого массива данных.

В представленном исследовании ЭЭГ-данных испытуемых с дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП) был использован метод многомерного шкалирования, т.е. математического аппарата анализа данных (состояний, структур) о попарных отношениях между ними с целью представления их в виде точек на координатном пространстве признаков, размерность которого значительно меньше размерности исходного.

В настоящей работе представлены результаты исследования ЭЭГ 5 здоровых испытуемых (контрольная группа) и 5 больных ДЭП. Запись ЭЭГ у каждого испытуемого проводилась по международной схеме 10×20 от 18 монополярных отведений на базе аппаратно-программного комплекса «Энцефалан-131–03» фирмы «Медиком». Для оценки когнитивных нарушений, проявляющихся при дисциркуляторной энцефалопатии, съем ЭЭГ осуществлялся при одновременном тестировании пациентов (тестами «Буква», «Лишнее», «Растения», «Счет», «Слова 1–1», «Слова 1–2», «Слова 2–1», «Слова 2–2»). Для повышения информативности ЭЭГ полученные данные были обработаны в программе «STATISTICA 12» методом многомерного шкалирования.

Результаты данного исследования позволяют сделать следующие выводы. При сравнении отведений ЭЭГ по тестам «Фон Открытые глаза (ОГ)», «Фон Закрытые глаза (ЗГ)», «Растения» и «Счет» у здоровых испытуемых наблюдается совпадение пространственных координат многомерного шкалирования практически по всем тестам.

В некоторых случаях на координатной плоскости заметно отличие в расположении точек теста «Счет», либо теста «Растения», и точками остальных тестов. У пациентов с ДЭП отсутствует отмеченное совпадение координат при выполнении тестов «Фон ОГ», «Фон ЗГ», «Растения», «Счет».

Применение многомерного шкалирования для анализа ЭЭГ по тестам «Фон ОГ», «Фон ЗГ», «Буква», «Лишнее» показало: у здоровых испытуемых координаты совпадают по тестам «Фон ОГ», «Фон ЗГ» и «Буква», также формируется область из точек теста «Лишнее». Для больных пациентов совпадение точек по указанным тестам отсутствует, однако изображение отличается объединением результатов в группы по тестам.

При анализе ЭЭГ здоровых испытуемых по тестам «Фон ОГ», «Фон ЗГ», «Слова 1–1» и «Слова 1–2» вновь выявлено практически полное совпадение координат по тестам или группировка точек теста «Слова 1–1». У больных пациентов распределение точек более хаотичное, в некоторых случаях имеет место группировка по тестам.

Сравнение ЭЭГ здоровых пациентов по тестам «Фон ОГ», «Фон ЗГ», «Слова 2–1», «Слова 2–2» снова показало практически полное совпадение координат по тестам. В некоторых случаях отдельную область формируют результаты теста «Слова 2–2». Для испытуемых с ДЭП характерно более хаотичное распределение точек, в некоторых случаях образуются области, соответствующие одному из тестов.

Аналогичные результаты были получены при сравнении тестов «Слова 1–3, Слова 1–4», «Слова 1–5, Слова 2–5», «Слова 2–3, Слова 2–4». Сделан вывод о том, что для здоровых испытуемых практически во всех тестах наблюдается совпадение или близкое расположение координат многомерного шкалирования. Для пациентов с ДЭП совпадение координат отсутствует, однако в некоторых случаях данные группируются в локальные области по тестам. Используя многомерное шкалирование в диагностике ДЭП, можно выявлять степень заболевания и оценивать результаты хирургического вмешательства в процессе лечения.

# ЛОКАЛИЗАЦИЯ микроРНК КЛАСТЕРА MIR-17~92 В НЕКОДИРУЮЩЕЙ ОБЛАСТИ ГЕНОВ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ГОНАДНОЙ ОСИ У ЖИВОТНЫХ С ОДНОПЛОДНОЙ И МНОГОПЛОДНОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ

*Н.С. Пономарева, Е.А. Пиеничный, Е.И. Шиманская, А.Е. Панич*

*Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону,  
пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: nsponomareva@sfnedu.ru*

Кластер микроРНК-17~92 содержит наиболее распространенные материнские микроРНК, обнаруженные в зиготе, и их профиль отображает динамическое регулирование во время оогенеза и раннего эмбриона. Было показано, что обилие микро РНК кластера mir-17~92 увеличивается во время оогенеза в зиготе и деления клеток эмбриона.

Исследовали локализацию кластера микроРНК Mir17~92 в интронах и цис-регуляторных районах генов гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси-альфа(GGA) и бета цепи фолликулостимулирующего гормона (FSHB), лютеинизирующего гормона ( LHB ) и тиреотропного гормона (TSHB) у млекопитающих с созреванием одного и нескольких доминирующих фолликул.

Последовательности нуклеотидов, локализованные в интронах и вокруг альфа и бета цепи генов, были извлечены из базы данных NCBI с помощью набора скриптов, разработанного нами ранее. Последовательности микроРНК были взяты из базы данных miRBase (<http://mirbase.org/>). На момент проведения нашего исследования база содержала 35828 последовательностей зрелых miRNA у 223 видов. Биоинформационный анализ осуществлялся с помощью GLAM2 и разработанного нами программного обеспечения Mscanner.

В результате биоинформационного анализа некодирующего генома вокруг генов лютеинизирующего гормона (LHB ) и тиреотропного гормона (TSHB) микроРНК кластера MIR-17~92 обнаружено не было, однако вокруг альфа(GGA) и бета цепи фолликулостимулирующего гормона (FSHB) было обнаружено более 50 совпадений со зрелыми молекулами mir-17~92 с вероятностью более 85 %.

У приматов (*H. sapiens*, *P. paniscus*, *M. mulatta*, *N. leucogenys*) вокруг GGA и FSHB всегда есть локализация хотя бы одной молекулы микроРНК из семейства mir-17~92. Практически у всех млекопитающих с одноплодной беременностью (у приматов и *L. Africana*, *M. lucifugus*, *B. Taurus*, *E. przewalskii*) после гена CGA локализована mir-17, а после FSHB mir-106.

Mir-106 не обнаружено, однако вокруг гена бета цепи часто регистрируются mir-20, mir-93, mir-18 у животных с многоплодной беременностью (*C. jacchus*, *T. chinensis*, *F. catus*, *E. europaeus*, *C. porcellus*, *O. cuniculus*, *S. araneus*, *E. Telfair*, *I. ridecemlineatus*, *M. putorius*). У *O. garnettii*, *T. syrichta*, *O. aries*, *O. princeps*, *C. porcellus*, *C. lupus*, *M. musculus* нами не обнаружено локализации ни одной молекулы из семейства mir-17~92.

Мы предполагаем, что молекулы семейства mir-17~92 принимают участие в созревании числа ооцитов в процессе фолликулогенеза у млекопитающих.

*Работа выполнена в рамках базовой части внутреннего гранта ЮФУ в 2015 по проекту 213.01–2015/003ВГ «Изучение ДНК-элементов некодирующих белок в структуре различных геномов» и выполнены на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ в рамках гранта Министерства образования и науки ФЦП № RFMEFI59414X0002.*

# ALU-ЭЛЕМЕНТЫ КАК ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ИСТОЧНИК САЙТОВ микро-РНК В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА

*Д.Е. Романов*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: rdme@ya.ru*

В предыдущих исследованиях было показано, что мотивы, гомологичные последовательностям микро-РНК, широко представлены в кодирующих и некодирующих частях генома человека. Было обнаружено, что расстояния между некоторыми сайтами связывания высококонсервативны [1], однако причину такой геномной организации еще предстоит определить.

Мы провели полногеномный биоинформатический поиск мотивов микро-РНК miR-1285-1, miR-1285-2, miR-619, miR-1273g, miR-5585, miR-5196, miR-466, miR-5096, miR-5095 с учетом сидов. Геномные последовательности были извлечены из базы данных NCBI с использованием набора утилит E-utilities. Последовательности микро-РНК взяты из базы данных miRBase, релиз 21. Поиск произведен с помощью набора программ miRanda и GLAM2Scan.

Около 80–90 % сайтов связывания микро-РНК miR-619, miR-5585, miR-5095 и miR-5096 были обнаружены внутри Alu-элементов, которые, по-видимому, являются основным источником этих последовательностей в геноме человека. Присутствие сайтов связывания определенных микро-РНК внутри Alu-элементов также объясняет высокий консерватизм расстояний между сайтами, упомянутый выше [1]. Более того, последовательности miR-1273g и miR-1285-1,2 были найдены внутри Alu-элементов, однако лежащие на противоположной цепочке. Последовательности pre-Mir-1273g были обнаружены внутри Alu-элементов, что делает последних предполагаемым источником зрелой miR-1273g. Только miR-5196 и miR-466 не были обнаружены внутри Alu-элементов, однако они также широко представлены в геноме человека.

Принимая во внимание то, что Alu-элементы характерны только для приматов и то, что они содержат множество сайтов связывания микро-РНК, указанные выше факты требуют дальнейшего рассмотрения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S.* The Properties of Binding Sites of miR-619-5p, miR-5095, miR-5096, and miR-5585-3p in the mRNAs of Human Genes // *BioMed Research International*. Vol. 2014, Article ID 720715, 8 p.

*Исследование было выполнено в рамках проектной части госзадания Министерства образования и науки в сфере научной деятельности № 6.703.2014/К на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ, грант RFMEFI59414X0002.*

---

## НАРУШЕНИЕ СИММЕТРИИ МОДЕЛИ ВИРУСНЫХ ОБОЛОЧЕК ПРИВОДИТ К НОВЫМ РЕШЕНИЯМ ПРОБЛЕМЫ ТОМСОНА

*Д.С. Рошаль*

*Южный федеральный университет, физический факультет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, 5  
E-mail: rochal.d@yandex.ru*

В начале XX века, пытаясь объяснить периодический закон Менделеева, Дж.Дж. Томсон предложил свою модель атома, согласно которой электроны, удерживаясь на поверхности сферы,

расталкиваются благодаря Кулоновскому потенциалу. Задача о нахождении позиций электронов на сфере в состоянии равновесия была названа проблемой Томсона. Со временем стало ясно, что проблема Томсона возникает на различных уровнях организации материи. Интерес к ней не ослабевает, поскольку обнаруживаются все новые сферические 2D-структуры, расположение структурных единиц в которых напоминает расположение электронов в атоме Томсона, например, вирусы, поры в пыльцевых зернах (проблема Таммеса), мультиэлектронные пузырьки в жидком гелии, различные двумерные коллоидные кристаллы [1–2], в том числе коллойдосомы [1]. Также проблема Томсона интересна, поскольку ее решением являются плотнейшие сферические упаковки. Например, в коллойдосоме плотность упаковки частиц влияет на проницаемость получаемого из нее наноконтейнера для адресной доставки лекарств.

Поиск Томсоновских структур, соответствующих глобальным минимумам кулоновской энергии, является интересной и непростой задачей, потому что энергия структур, соответствующих глобальным и локальным минимумам очень близка. Проблема Томсона включена в различные списки важнейших нерешенных математических проблем XXI века.

Некоторые из Томсоновских структур похожи на вирусные оболочки, устройство которых было впервые интерпретировано в рамках простой геометрической модели, предложенной более полувека назад Каспаром и Клугом [3]. Метод основан на использовании развёртки правильного, гладко покрытого гексагональной решёткой, в узлах которой располагаются частицы. К сожалению, не все вирусные оболочки являются решением задачи Томсона, и к тому же, лишь очень немногие значения числа  $N$  частиц в структуре разрешены в модели Каспара-Клуга. Однако это наблюдение позволило нам усовершенствовать геометрическую модель Каспара-Клуга и получить новые низкоэнергетические структуры.

В моей работе [4] был предложен новый метод получения пробных структур для последующей оптимизации (см. рис.). Метод основан на использовании развёртки правильного Каспар-Клуговского икосаэдра с удаленными вершинами (см. рис., а) или слегка деформированного икосаэдра (рис., б), гладко покрытого гексагональной решеткой, в узлах которой располагаются частицы. Пробная структура получается путем проецирования икосаэдра, собранного из развёртки, на сферу. Идея метода – постепенное нарастание степени нарушения симметрии икосаэдра.

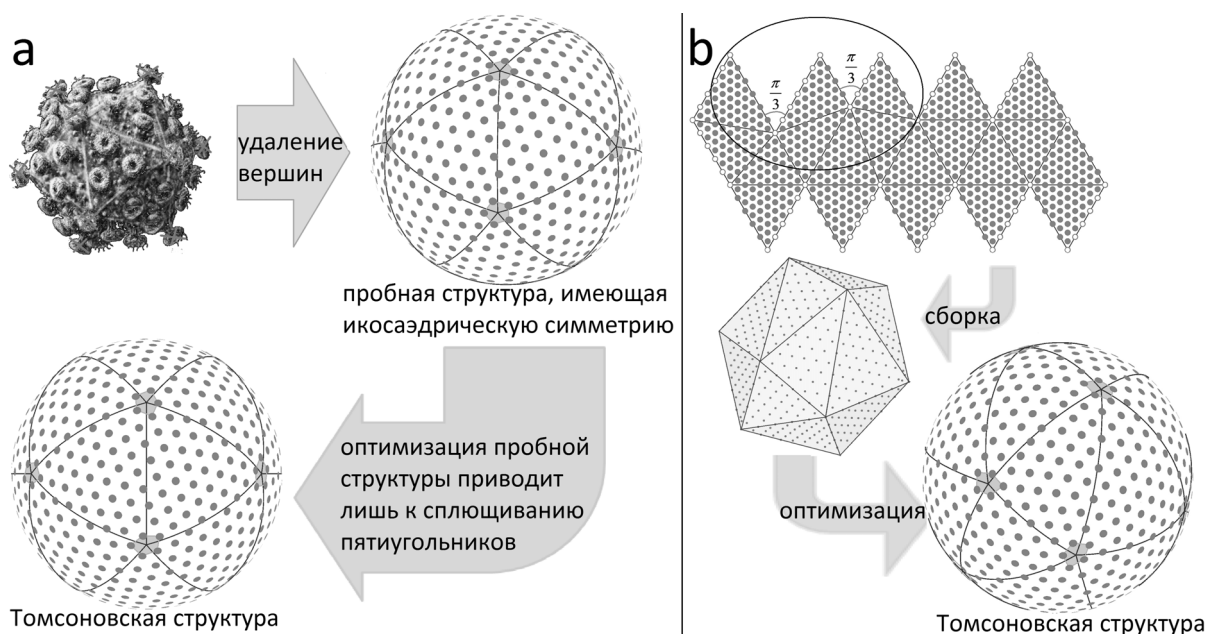


Рис. Методы получения Томсоновских структур: от слабого нарушения икосаэдрической симметрии модели вируса на панели (а) к сильному, показанному на панели (б), где икосаэдрическая симметрия нарушается ещё до численной оптимизации

В работе [4] анализировались сферические структуры с количеством частиц из интервала  $600 < N < 1000$ . В результате были получены 40 сферических кристаллов, обладающих энергиями, меньшими, чем известные ранее структуры с тем же самым количеством частиц  $N$ . Возможно, что полученные структуры являются решением проблемы Томсона. Наши результаты могут быть интересны для ученых, занимающихся проблемами самосборки различных нано и микрообъектов. Например, наши разработки можно применить к исследованиям ошибочно собранных вирусных капсидов и фуллеренов.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант офи-м 13-02-12085.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Рошаль Д.С.* Образование областей с квадратным порядком на поверхности коллоидосом // Физика твердого тела. 2013. Т. 55, С. 2012–2015.
2. *Roshal D.S., Petrov K.Yu., Myasnikova A.E., Rochal S.B.* Extended topological defects as sources and outlets of dislocations in spherical hexagonal crystals // Phys. Lett. A. 2014. Vol. 378. P. 1548–1552.
3. *Caspar D.L.D., Klug A.* Physical principles in the construction of regular viruses // Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1962. Vol. 27. P. 1–24.
4. *Roshal D.S., Myasnikova A.E., Rochal S.B.* Slightly broken icosahedral symmetry advances Thomson problem // Phys. Lett. A. 2015. Vol. 379. P. 372–376.

---

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА ЧЕРЕЗ ПОВЕРХНОСТЬ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИИ

***К.В. Шадрин<sup>1,2</sup>***

<sup>1</sup>*Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, 660022, Российская Федерация, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1*  
<sup>2</sup>*Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, 660036, Российская Федерация, Красноярск, Академгородок, 50*  
*E-mail: kvsh\_buffon@mail.ru*

В литературе существуют данные о том, что печень, находящаяся в условиях изолированной перфузии, может потреблять кислород не только через сосудистое русло, но и через поверхность [1, 2]. Проблема доставки кислорода в изолированный орган особенно остро стоит при его хранении и транспортировке для последующей трансплантации и при создании искусственных органов [3]. Данные экспериментов свидетельствуют лишь о факте поступления кислорода в ткани органа, а не о способе его доставки. Математическое моделирование может способствовать выявлению особенностей такого транспорта, поскольку эксперименты, способные выявить закономерности транспорта кислорода через поверхность печени и его влияния на метаболизм, достаточно трудоемки.

Для математического описания метаболических процессов часто используют методы стехиометрического моделирования.

Целью работы явилось выявление закономерностей транспорта кислорода через поверхность изолированной перфузируемой печени с использованием стехиометрического моделирования.

Экспериментальные животные (крысы-самцы Wistar) были разделены на три группы: 1-я (контроль) – перфузионную среду оксигенировали смесью  $O_2-CO_2$  (95:5); 2-я – перфузионную среду оксигенировали смесью  $O_2-CO_2-N_2$  (14:5:81); 3-я – в перфузионную среду, оксигенированную смесью  $O_2-CO_2$  (95:5), вводили хлорид кобальта в концентрации  $10^{-4}$  М со скоростью 0,25 мл/мин с 30-й по 40-ю минуты перфузии. Камеру с органом оксигенировали газовой смесью  $O_2-CO_2$  (95:5).

На основе полученных в ходе перфузии данных рассчитывали удельные скорости потребления кислорода (через сосудистое русло и через поверхность) и выделения углекислого газа, скорости продукции глюкозы, молочной кислоты и мочевины ( $мкмоль \cdot мин^{-1} \cdot г^{-1}$ ).

В качестве метода стехиометрического моделирования использовали Flux Balance Analysis [4]. Модель включала в себя цикл Кребса, цикл мочевины, гликолиз, глюконеогенез, синтез гликогена, распад гликогена, а также влияние бикарбонатного буфера на выход углекислого газа. Для вычисления величин метаболических потоков решали задачу многокритериального программирования [5] с максимизацией продукции АТФ и синтеза мочевины. В качестве ограничений использовали величины субстратных потоков кислорода, углекислого газа, глюкозы, лактата, мочевины, полученные в эксперименте.

В результате стехиометрического моделирования было получено, что для транспорта одной молекулы кислорода через поверхность изолированной печени в условиях нормоксии (контроль) необходимы две молекулы АТФ, в группе, где орган перфузировали средой с низким содержанием кислорода – 7, а в группе, где в циркуляцию вводили хлорид кобальта, – 8 молекул АТФ.

Полученный результат является довольно неожиданным. Известно, что межклеточная жидкость участвует в транспорте растворенных в ней веществ к клеткам [3]. Межклеточная жидкость циркулирует между клетками при помощи ресничек, находящихся на их поверхности. Для создания необходимой интенсивности потока жидкости, обеспечивающей адекватную доставку кислорода, как в нормальном, так и в экстремальном состоянии, необходима энергия, которая расходуется непосредственно на движение ресничек. Поскольку в состоянии гипоксии органу необходимо больше кислорода, то и поток межклеточной жидкости больше, что выражается в увеличении количества используемого АТФ.

Таким образом, можно сделать вывод, что транспорт кислорода через поверхность изолированной перфузируемой печени крысы является процессом, связанным с затратами энергии, однако этот процесс – не активный транспорт, а, вероятнее всего, является вторично-активным транспортом.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Нефедов В.П., Рупенко А.П., Валук В.А., Панов А.В., Вавилин В.А. Модификация действия адреналина на метаболизм тканей изолированной печени крыс при перфузии средами различного состава // Успехи гепатологии XV. 1991. С. 335–352.
2. Рупенко А.П., Круглик О.В., Моргулис И.И. Снабжение печени кислородом в условиях изолированной перфузии // Доклады Академии наук. 2008. Т. 418. № 1. С. 128–130.
3. Лукьянова Л.Д., Балмуханов Б.С., Уголев А.Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. М.: Наука. 1981. 236 с.
4. Kauffman K.J., Prakash P., Edwards J.S. Advances in flux balance analysis // Current Opinion in Biotechnology. 2003. Vol. 14. №. 5. P. 491–496.
5. Sharma N.S., Ierapetritou M.G., Yarmush M.L. Novel quantitative tools for engineering analysis of hepatocyte cultures in bioartificial liver systems // Biotechnol. Bioeng. 2005. Vol. 92. P. 321–335.

# БИОИНФОРМАЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ миРНК – РЕГУЛЯТОРОВ ГЕНОВ-СУПРЕССОРОВ ОПУХОЛЕЙ

*Т.П. Шкурат, А.А. Пушкин, М.Ю. Козлова, Е.А. Колина, И.О. Покудина*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: tshkurat@yandex.ru*

МиРНК играют важную роль в регуляции генных сетей ингибирования экспрессии мРНК мишеней вирусов, растений, животных и человека. Выявлена ключевая роль миРНК в нарушении баланса пролиферации, дифференцировки и запрограммированной клеточной смерти при развитии различных заболеваний, в том числе онкологической патологии. Показано, что каждый тип опухолей человека обладает уникальным набором экспрессируемых микроРНК, и опухолевоспецифические микроРНК присутствуют за пределами новообразования, в различных биологических жидкостях больного, где они беспрецедентно стабильны и могут определяться в следовых концентрациях с помощью ПЦР-технологий.

Выяснено, что миРНК способны участвовать в регуляции мРНК, связываясь с ней не полностью. Для определения силы связывания был введен параметр «коэффициент связывания». Чем выше коэффициент связывания миРНК с мРНК, тем выше ее регуляторная способность. Определение числа уникальных мРНК, которые являются таргетными к типичной миРНК, различно в зависимости от используемого метода. Одна миРНК способна к супрессии сотен белков.

Биоинформационный поиск с использованием программного обеспечения и баз данных позволяет точно определить, какими миРНК регулируется ген и определить степень связывания. Полученные данные обеспечивают точную подготовку к последующим экспериментам.

В работе были исследованы гены сигнального пути эпидермального фактора роста: EGFR, KRAS, BRAF, MAPK1. Регуляторы апоптоза: BAX и BCL2. Ген эффекторной цистеиновой протеиназы – CASP3, MDM2 – негативный регулятор гена TP53 и, соответственно, сам ген TP53.

Оценка количества сайтов связывания с коэффициентом связывания выше 95 и выявление мультигенных миРНК для генов-онкосупрессоров проводилось при помощи базы данных «MiTarBase». Оценка окрестности генов, определение количества сайтов-связывания с коэффициентом выше 95 в окрестностях генов и внутри них и выявление мультигенных миРНК в базе данных «miRBase» проводились с помощью программного обеспечения «mscanner».

В базе данных miRTarBase находится более пятидесяти тысяч миРНК-мишеней (MTIs), она пополняется путем обработки данных литературы, связанных с функциональными исследованиями миРНК. Как правило, собранные MTIs проверяются экспериментально: с помощью репортерного, вестерн-блот, микрочипового анализов и секвенирования. База данных «miRBase» является поисковой базой данных опубликованных миРНК последовательностей и аннотации. Каждая запись последовательностей в базе данных «miRBase» представляет собой прогнозируемую миРНК с информацией о месте и зрелой последовательности миРНК. Для поиска и просмотра доступны шпильки и зрелые последовательности, миРНК также могут быть найдены по названию, ключевому слову, ссылке и аннотации.

По данным, полученным в результате обработки базы данных «MiTarBase», мультигенными регуляторами для исследуемой группы генов являются следующие миРНК: hsa-miR-145-5p, hsa-miR-128-3p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-15b-3p, hsa-let7-5a, hsa-miR-15a-5p, hsa-miR-16-5p, hsa-miR-34a-5p, hsa-miR-375, hsa-miR-7-5p, hsa-miR-143-3p, hsa-miR-125b-3p, hsa-miR-296-5p, hsa-miR-25-3p, hsa-miR-30d-5p, hsa-miR-605-5p, hsa-miR-504-5p, hsa-miR-26b-5p.

По данным, полученным в результате обработки базы данных «miRBase», мультигенными регуляторами для исследуемой группы генов являются следующие миРНК: hsa-mir-619, hsa-mir-5096, hsa-mir-1273g, hsa-mir-1273e, hsa-mir-5585, hsa-mir-5095, hsa-mir-1273h, hsa-mir-1972-2,



hsa-mir-1285-1. Также была выявлена частота встречаемости различных миРНК отдельно по каждому гену в исследуемой группе онкосупрессоров.

Использование поиска на основе программы «mScanner», позволило получить информацию о длине генов, длине окрестностей перед и после генов, а также частоту встречаемости сайтов связывания в этих участках и коэффициенты сайтов связывания.

*Исследования выполнены в рамках базовой части внутреннего гранта ЮФУ по проекту 213.01–2015/003ВГ «Изучение ДНК-элементов некодирующих белок в структуре различных геномов».*

---

## **БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МИРНК В МЕЖГЕННОМ ПРОСТРАНСТВЕ ГЕНОВ ОСИ СОМАТОТРОПИНА У РАЗЛИЧНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

**Т.П. Шкурат, Е.И. Шиманская, М.Ю. Козлова, Г.Б. Бахтадзе**

*Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1  
E-mail: tshkurat@yandex.ru*

Размер тела млекопитающего может отличаться в 75 миллионов раз, например, вес самого маленького млекопитающего, летучей мыши (*Bumblebee bat*), составляет 2 г, в то время как самое крупное, синий кит (*Balaenoptera musculus*), весит 150 тонн. Эта сложная регуляция роста животных зависит от нескольких гормонов. Секретия гормона роста (GH, growth hormone) гипофизом активируется соматолиберин (GH-releasing hormone, GHRH) и тормозится соматостатином (somatostatin, SRIF). На уровне гипофиза существует управление секретией гормона роста посредством инсулиноподобного фактора роста-1 (insulin-like growth factor I, IGF-I) и свободных жирных кислот.

С целью понимания взаимодействия микроРНК с механизмами генетического контроля роста животных, мы провели биоинформационный анализ по изучению распространенности микроРНК в интронах и *цис*-регуляторных районах генов оси соматотропина – GH1, GHRH, SST, и IGF1. Биоинформационный анализ локализации микроРНК в интронах и межгенном пространстве генов GH1, GHRH и IGF1 был проведен у животных с эволюционно закрепленным различным весом и ростом: слон (*Loxodonta africana*, 4 800 кг), бык (*Bos taurus*, 750 кг), свинья (*Sus scrofa*, 170 кг), горилла (*Gorilla gorilla*, 150 кг), панда (*Ailuropoda melanoleuca*, 115 кг), орангутан (*Pongo abelii*, 87 кг), овца (*Ovis aries*, 80 кг), человек (*Homo sapiens*, 62 кг), шимпанзе (*Pan troglodytes*, 45 кг), собака (*Canis lupus*, 40 кг), макака (*Macaca mulatta*, 8,2 кг), кролик (*Oryctolagus cuniculus*, 1,8 кг), ёж (*Erinaceus europeus*, 0,75 кг), морская свинка (*Cavia porcellus*, 0,7 кг), крыса (*Rattus norvegicus*, 0,3 кг) и мышь (*Mus Musculus*, 0,02 кг).

Результаты эксперимента показали значительную разницу в количестве копий исследуемых микроРНК вокруг генов соматотропной оси у всех приматов. Наибольшее количество мотивов в *цис*-регуляторных областях и интронах исследуемых генов было обнаружено в mir-5096 и mir-1268 в группе приматов. Более 90 копий mir-566, 80 копий mir-1273, 80 копий mir-1268, 90 копий mir-5096 и 15 копий mir-3929 были локализованы в интронах и вокруг исследуемых генов у всех приматов; 10 копий mmu-mir-3470, 1 экземпляр eca-mir-1244 и 1 копия mmu-mir-3471-2 были найдены у грызунов. МикроРНК mir-599, mir-1273, mir-1268, has-mir-5096 регистрировали только у приматов.

*Работа выполнена в рамках базовой части внутреннего гранта Южного федерального университета в 2015 по проекту 213.01–2015/003ВГ «Изучение ДНК-элементов некодирующих белок в структуре различных геномов».*

---

### *Mycoplasma bovis* В ДИКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ ЗУБРА ЕВРОПЕЙСКОГО (*Bison bonasus*)

П.В. Аксенова

Ростовский-на-Дону зоопарк, 344039, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Зоологическая, 3  
E-mail: polinax-1@mail.ru

Целью исследования явилось выяснение причины падежа европейских зубров в России.

В последнее время появляется все больше тревожных публикаций о стремительно растущей роли *Mycoplasma bovis* в доле общей инфекционной патологии животных. К сожалению, мы пока не имеем достаточно данных, чтобы однозначно заявлять о значимости заболевания среди европейских зубров в России. Тем не менее, циркуляция *M. bovis*, как в диких, так и в племенных популяциях зубров на территории РФ и ее роль в индукции тяжелой фибринозно-некротической пневмонии с летальным исходом у зубров доказаны нашими исследованиями.

В России заболевание было зарегистрировано в диких популяциях зубров Тебердинского природного государственного биосферного заповедника и Северо-Осетинского природного государственного биосферного заповедника предположительно после введения в них животных из питомника по разведению зубров Приокско-Тerrasного государственного заповедника.

Посредством полимеразной цепной реакции и бактериологических исследований было исследовано наличие возбудителей следующих заболеваний: микоплазмоз, гемофилез, аденовирусная инфекция, парагрипп-3, инфекционный ринотрахеит, респираторно-синцитиальная инфекция, герпесвирус IV типа, стрептококкоз, лептоспироз, злокачественная катаральная горячка, хламидиоз, бруцеллез, бабезиоз, нейсерия, вирусная диарея.

Подтверждено наличие *Mycoplasma bovis*, как правило, в ассоциации с *Neisseria* sp., *Haemophilus* sp. *M. bovis* была выделена из крови, легких, бронхиальных лимфатических узлов, печени и сердца.

При манифестации *M. bovis*-ассоциированной пневмонии наблюдали следующие клинические признаки: тахипноэ, одышку, снижение аппетита, общее угнетение, кашель, необильные назальные истечения, перемежающуюся хромоту. На поздних стадиях заболевания отмечались значительная потеря массы тела вплоть до кахексии при сохранении аппетита, острая дыхательная и сердечная недостаточности.

Посмертно определяли: крупозное, геморрагическое или гнойно-некротическое воспаление легких, не затрагивающее плевру, диффузную токсическую дистрофию печени, характеризующуюся дегенеративным ожирением с распадом и аутолизом печеночной паренхимы, фибринозный эндокардит с поражением клапанного аппарата.

После манифестации клинических признаков летальность заболевания у зубров составляла 100 %.

Эпизоотический процесс при микоплазмозе в популяции развивается медленно и может длиться годами, так как заболевание стационарно. При попадании животного в стрессовую ситуацию (перегруппировка, транспортировка, переохлаждение или перегрев) частота выделения возбудителя увеличивается. Можно выделить несколько основных групп животных по степени реакции на заражение: некоторые останутся резистентны к инфекции, у части проявится клиническая картина, у других инфекция примет субклиническую форму, а часть животных обязательно станет хроническими носителями инфекта. Поэтому основной причиной заражения

интактного стада считают введение в него инфицированных животных с латентной формой заболевания. При этом источник инфекции довольно трудно определить из-за вариативности форм течения и прерывистости выделения патогена зараженным животным. Создается впечатление, что вспышка заболевания часто возникает через длительное время после перегруппировки, казалось бы, в изолированном стаде. Хронические бессимптомные формы инфекции с прерывистым выделением возбудителя имеют решающее значение для эпизоотии стационарной инфекции, особенно для персистенции *M. bovis* в диких популяциях.

В связи с особенностями своего происхождения (реконструкции вида из 12 животных-основателей и высокая степень инбридинга) зубр особенно уязвим к изменениям окружающей среды и случайным внутривидовым колебаниям. Несмотря на активно проводимую политику разведения и реинтродукции зубров в естественные места обитания популяции *Bison bonasus* все еще находятся в зоне риска ввиду малых размеров группировок, их изолированности и высокой доли инбридинга. В этих обстоятельствах бесконтрольная циркуляция *M. bovis* в диких популяциях зубров может привести к катастрофическим последствиям.

В условиях дикой природы очень сложно контролировать эпизоотический процесс. Возбудитель легко передается от животного к животному. Однажды приобретя *M. bovis*, от нее очень сложно избавиться, поскольку возбудитель передается из поколения в поколение. Летальность заболевания чрезвычайно высока. При этом нельзя успокаиваться, если падеж и клинические случаи заболевания в стаде прекратились. Как и у всякого стационарного заболевания, интенсивность проявления микоплазмоза в популяции циклична.

В связи с этим, по нашему мнению, необходимо обеспечить полное эпизоотологическое исследование, охватывающее все изолированные природные группировки зубров, чтобы четко представлять масштабы распространения и эпизоотические очаги инфекции. На основании обследования разработать программу мероприятий по оздоровлению инфицированных стад, выработку превентивных мер по недопущению попадания инфекции в здоровые стада и корректировку планов выпусков животных в природу.

---

## **ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕНЗИОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МОЛОКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ В НЕМ ЖИРА И БЕЛКА**

*Н.А. Довженко, И.В. Милаёва, О.А. Воронина, М.С. Царькова, С.Ю. Зайцев*

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина (ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА им. К.И. Скрябина), 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23*

*E-mail: ninavea@mail.ru: ira-gurievich@list.ru: voroninaok-senia@inbox.ru: marina.tsarkova@gmail.com: szaitsev@mail.ru*

Производство молока является одной из важных областей в сельском хозяйстве и имеет большое значение для экономики страны. Для увеличения количества производимого молока и получения высоко качественной продукции необходимо проводить своевременную диагностику состояния организма животных. Содержание жира и белка в молоке, а также их соотношение относятся к основным параметрам молока. На них могут оказывать существенное влияние общее состояние организма и физиолого-биохимический статус животного, полноценность и сбалансированность рациона и ряд других факторов [1, 2].

Материалом служили пробы молока разной жирности: 1) % жира меньше 2,5; 2) % жира от 2,5 до 4; 3) % жира от 4 до 6. Данные образцы получены от коров черно-пестрой породы. Согласно методике пробоподготовки, в пробы добавлялся консервант молока широкого спектра действия Broad Spectrum Microtabs II (1 таблетка консерванта (18 мг) на 20–40 мл молока). Перед исследованием все стаканчики с молоком были помещены на 10 мин на водяную баню при температуре 42 °С. Затем в образцах определяли содержание жира (в %) и белка (в %) на оптическом инфракрасном анализаторе Bentley 150 (США). Также на тензиометре ВРА-1Р (Maximum Bubble Pressure Tensiometer), «Sinterface Technologies» (ФРГ) определяли динамическое поверхностное натяжение (ДПН) молока. В дальнейшем с помощью компьютерной программы ADSA рассчитывали тензиометрические параметры (ДПН при различных временах «существования поверхности»):  $\sigma_0$  (при  $t \rightarrow 0$ ),  $\sigma_1$  (при  $t=0,02$ с),  $\sigma_2$  (при  $t=1$  с),  $\sigma_3$  при ( $t \rightarrow \infty$ ); а также углы наклона начального ( $\lambda_0$ ) и конечного ( $\lambda_1$ ) участка тензиограммы. Также был проведен корреляционный анализ между этими параметрами и содержанием жира и белка [3]. Все полученные результаты были обработаны статистически по стандартным методикам в программе Excel.

Для всех исследованных групп молока максимальные значения ПН были установлены при  $t=0,02$ с ( $\sigma_1$ ). При увеличении времени существования поверхности наблюдалось его плавное снижение: для группы № 1 – на 21 % ( $p<0,001$ ), для группы № 2 – на 24,5 % ( $p<0,001$ ), для группы № 3 – на 22 % ( $p<0,001$ ). Наиболее достоверные отличия в показателях ПН были установлены между первой и второй группой. Так, при снижении жирности молока все показатели ПН тоже снизились:  $\sigma_0$  – на 3,6 % ( $p<0,01$ ),  $\sigma_1$  – на 5,7 % ( $p<0,001$ ),  $\sigma_2$  – на 3,4 % ( $p<0,05$ ),  $\sigma_3$  – на 1 %; углы наклона:  $\lambda_0$  – на 3,7 % и  $\lambda_1$  – на 22 % ( $p<0,05$ ). При увеличении жирности (группы 2 и 3) достоверно снизилось только ПН при  $t=0,02$ с ( $\sigma_1$ ) – на 3,6 % ( $p<0,01$ ), остальные параметры изменялись незначительно, в пределах ошибки.

При проведении корреляционного анализа установлено, что жирность молока оказывает больше всего влияние при среднем содержании жира (во 2-й группе), а содержание белка – при низком и среднем содержании жира (группы 1 и 2). В публикации [4], посвященной регрессионному анализу в моделировании взаимосвязи биохимических показателей молока с его тензиометрическими параметрами, показано, что при оценке вклада липидных компонентов предпочтительное значение имеют параметры  $\sigma_1 \dots \sigma_3$ , а для белковых компонентов – параметры  $\lambda_1$ . Данная зависимость описывается регрессионными уравнениями:

$$[\text{жир}] = 5,85 + 0,071 \times \sigma_0 - 0,094 \times \sigma_1 - 0,16 \times \sigma_2 + 0,17 \times \sigma_3$$

$$[\text{белок}] = 3,59 - 0,027 \times \lambda_1$$

Проанализировав полученные результаты можно сказать, что при увеличении жирности молока коров наблюдается обратно пропорциональное увеличение параметров ПН при разных временах существования поверхности. Так, достоверное увеличение наблюдалось при жирности от 2,5 до 4 %, затем было небольшое снижение показателей, но в пределах ошибки измерений, что может указывать также на влияние на ДПН других компонентов молока, в частности белка (его количество в данной группе (№ 3) было максимальным).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. СПб.: ГИОРД, 2001. 320 с.
2. Кузнецов А., Кузнецов С. Содержание жира и белка в молоке коров // Комбикорма. 2010. № 7. С. 61–64.
3. Зайцев С.Ю., Довженко Н.А., Милаева И.В., Зарудная Е.Н., Царькова М.С. Методические основы применения межфазной тензиометрии для исследования биологических жидкостей // Проблемы биологии продуктивных животных. 2015. № 2. С. 97–105.
4. Милаева И.В., Зайцев С.Ю., Довженко Н.А., Царьков Д.В., Царькова М.С. Регрессионная модель в анализе связи динамического поверхностного натяжения с содержанием жира и белка в молоке коров // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2015. № 3. С. 67–76.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14–16–00046).*

# ВЗАИМОСВЯЗЬ ТЕНЗИОМЕТРИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ С ЖИРНОМОЛОЧНОСТЬЮ КОРОВ

*Е.Н. Зарудная, С.Ю. Зайцев*

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23  
E-mail: e-n-zarudnaya@mail.ru; szaitsev@mail.ru*

Молоко – одна из важнейших биологических жидкостей, характеризующая биохимический статус лактирующих животных. Помимо этого, молоко является естественной пищей для новорожденных и ценным пищевым продуктом для человека.

Качество молока определяется его химическим составом (содержание жира, белка, их соотношение и др.), а также физико-химическими показателями, одними из которых являются тензиометрические параметры [1–2]. Известно, что на качество молока оказывают влияние различные факторы, как генетические, так и паратипические (уровень и полноценность кормления, физиологическое состояние, здоровье, система содержания животных, сезон года и ряд других) [1].

Материалом для исследования служило молоко, полученное от 30 клинически здоровых коров черно-пестрой породы 2–6 лактации (3–5 лет), находящихся на 3–4-м месяце лактации с удоем за предыдущую лактацию  $3891 \pm 199$  кг. Животные были разделены на группы по принципу аналогов в зависимости от их жирномолочности: I – с содержанием жира 3–4 %, II – с содержанием жира 4–5 %, III – с содержанием жира более 5 %. Забор молока производили во время утренней дойки. Для физико-биохимических исследований использовали цельное молоко.

Тензиометрические параметры рассчитывали с помощью компьютерной программы ADSA по данным, полученным при измерении поверхностного натяжения (ПН) при разных временах «существования» поверхности:  $t \rightarrow 0$  с ( $\sigma_0$ ),  $t=0,02$  с ( $\sigma_1$ ),  $t=1$  с ( $\sigma_2$ ) и  $t \rightarrow \infty$  с ( $\sigma_3$  – равновесное ПН), а также коэффициенты наклона тензиограммы ( $\lambda_0$  и  $\lambda_1$ ). Измерение ПН проводили по адаптированной методике на ВРА-1Р (Maximum Bubble Pressure Tensiometer; Sinterface Technologies, Германия) [2–3].

В результате исследований было выявлено, что с увеличением жирности молока от 3–4 % до 4–5 %  $\sigma_0$  достоверно снижается на 8,2 % ( $p \leq 0,01$ ; от  $61,99 \pm 0,88$  до  $56,89 \pm 0,91$  мН/м), при дальнейшем увеличении жирности молока значения  $\sigma_0$  изменяются в пределах ошибки измерения. Значения  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  и  $\lambda_1$  с увеличением жирности молока от 3–4 до 5 % и выше также достоверно снижаются:  $\sigma_1$  – на 11,2 % ( $p \leq 0,01$ ; от  $62,00 \pm 1,12$  до  $55,17 \pm 0,15$  мН/м),  $\sigma_2$  – на 5,7 % ( $p \leq 0,05$ ; от  $54,97 \pm 1,17$  до  $51,86 \pm 1,01$  мН/м) и  $\lambda_1$  – на 25,6 % ( $p \leq 0,05$ ; от  $6,41 \pm 0,55$  до  $4,77 \pm 0,43$  мН·м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup>). Для  $\sigma_3$  и коэффициента  $\lambda_0$  отсутствует яркая тенденция в зависимости от жирности молока и их значения колеблются в пределах погрешности измерения ( $47,34 \pm 0,90$  мН/м и  $7,05 \pm 0,69$  мН·м<sup>-1</sup>с<sup>-1/2</sup>, соответственно). По-видимому, это связано с изначально высоким содержанием поверхностно-активных веществ (ПАВ) в молоке и высокой конкурентностью ПАВ на границе раздела фаз при приближении к равновесному поверхностному натяжению.

Содержание белка в молоке коров и соотношение жир/белок, напротив, с увеличением жирности молока повышаются на 88,3 и 41,2 %, соответственно (табл.). Отдельные исследователи отмечают, что при сбалансированном кормлении соотношение жир/белок в молоке находятся в определенных пределах от 1,2:1 до 1,5:1 [2], а относительно низкое содержание белка в молоке лактирующих животных при соотношении жир/белок = 1,07/1 может свидетельствовать о недостаточной энергетической ценности корма.

**Биохимические показатели молока в зависимости от жирномолочности коров ( $M \pm m$ , где  $n=10$ )**

Биохимические показатели	Жирность молока, %		
	3–4	4–5	свыше 5
Жир, %	3,07±0,12	4,25±0,18***	5,78±0,18***###
Белок, %	3,17±0,07	3,66±0,15***	3,82±0,15***
Соотношение жир/белок	1,07/1	1,16/1	1,51/1

\*\*\* Достоверное различие ( $p \leq 0,001$ ) по сравнению с пробами молока 2–3,5 % жирности.

### Достоверное различие ( $p \leq 0,001$ ) по сравнению с пробами молока 3,5–5 % жирности.

Увеличение жирномолочности коров носит согласующийся характер с тензиометрическими и биохимическими показателями. Проведенный корреляционный анализ выявил отрицательную корреляционную связь между содержанием жира и параметрами:  $\sigma_0$ ,  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  и  $\lambda_1$  и положительную – между содержанием жира и белка в молоке.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Кузнецов А., Кузнецов С. Содержание жира и белка в молоке коров // Комбикорма. 2010. № 7. С. 61–64.
2. Милаева И.В., Зарудная Е.Н., Зайцев С.Ю. и др. Межфазная тензиометрия в ветеринарии. М.: ФГОУ ВПО МГАВМиБ, 2010. 110 с.
3. Зарудная Е.Н. Исследование поверхностного натяжения сыворотки крови свиней // Ветеринарная медицина. 2008. № 4. С. 33–35.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14–16–00046).*

**СОДЕРЖАНИЕ ДИОКСИНОВ И ДИОКСИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ В ТКАНЯХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ СВИНЕЙ**

**Е.Н. Зарудная<sup>1</sup>, К.С. Прокушина<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23

<sup>2</sup>Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория, 111622, Российская Федерация, г. Москва, ул. Оранжевая, 23

E-mail: e-n-zarudnaya@mail.ru; raven-a@list.ru

Исследования последних лет выявили значительное вредное влияние химических загрязнений окружающей среды на экосистемы и здоровье животных и человека. Наибольшую тревогу вызывает особый класс стойких органических загрязнителей окружающей среды и его наиболее опасные представители – диоксины.

Термин «диоксины» объединяет обширную группу веществ: наиболее токсичный 2,3,7,8-тетрахлордibenzo-п-диоксин (2,3,7,8-ТХДД) и ряд его структурных аналогов из семейств полихлорированных dibenzo-п-диоксинов (ПХДД), dibензофуранов (ПХДФ) и бифенилов (ПХБ). Они характеризуются чрезвычайной стойкостью в окружающей среде, свойствами кумуляции

и биоаккумуляции, уже в малых дозах оказывают мутагенное, тератогенное, эмбриотоксическое, канцерогенное действие, подавляют иммунную систему. Диоксины имеют исключительно техногенное происхождение, не являясь целью ни одной из технологий.

Материалом для исследования служили печеночная и мышечная ткань и сыворотка крови 20 клинически здоровых свиней в возрасте 6–8 месяцев массой 80–90 кг. Все животные принадлежали одному свиноводческому хозяйству Брянской области. Кровь у животных брали из краниальной поллой вены в утренние часы, натощак, в состоянии покоя за 1 день до убоя.

Диоксины и диоксиноподобные вещества (ДВП) определяли с помощью метода Dr Calux®. Преимущества данного метода: доступность, выполнение большого числа исследований в сжатые сроки, высокие производительность и чувствительность, использование доступных реагентов, исследование широкого спектра матриц. При постановке метода используют специальные генно-модифицированные клетки опухоли печени крысы со встроенным геном светлячка. Попадая в клетку, диоксины и ДВП связываются с арилгидрокарбоновым рецептором, образовавшийся комплекс переносится в ядро клетки. В результате происходит экспрессия фермента люциферазы, способной окислять вносимый пигмент люциферин. Интенсивность люминесценции, сопровождающей этот процесс, прямо пропорциональна содержанию диоксинов в исследуемом объекте.

Превышение остаточных количеств диоксинов и ДПВ неоднократно (Германия (1966, 2011), Италия (1978), США (1971–1975), Ирландия (2008) и др.) становилось причиной массовых отравлений и выбраковки продукции животноводства [1–2]. Одним из основных органов накопления диоксинов в организме и наиболее удобным объектом исследования является печень. Для исследования брали гомогенизированную навеску печеночной ткани массой 100 г. Содержание диоксинов и ДВП в печени свиней в среднем составило  $0,73 \pm 0,27$  нг ТЭК ВОЗ/кг жира при норме 10 нг ТЭК ВОЗ/кг жира.

Содержание диоксинов и ДВП в мышечной ткани (навеска 100 г) свиней в среднем составило  $0,57 \pm 0,06$  нг ТЭК ВОЗ/кг жира при норме 1,25 нг ТЭК ВОЗ/кг жира.

Особый интерес с точки зрения распространения и биоаккумуляции диоксинов и ДПВ в организме представляет измерение их концентрации в сыворотке крови животных и сопоставление результатов с содержанием диоксинов и ДПВ в печени и мышцах. Коэффициент распределения диоксинов в крови обычно крайне низок, но Метод Dr Calux® достаточно точен и чувствителен даже для определения микроконцентраций. Полученные результаты представлены в двух измерениях – нг ТЭК ВОЗ/л крови и в пересчете на нг ТЭК ВОЗ/кг жира и составляют  $0,16 \pm 0,002$  и  $134,00 \pm 25,02$ , соответственно. При этом содержание диоксинов и ДПВ в печеночной (на 78,08 %) и мышечной (на 71,93 %) достоверно выше, чем в сыворотке крови. Это связано с тем, что, обладая высокой липофильностью, диоксины циркулируют по организму в составе липидов крови, а кумулируются преимущественно в печени и липидных фракциях других тканей.

Во всех исследованных образцах тканей свиней содержание диоксинов и ДПВ не превышает нормы, утвержденные регламентом комиссии ЕС № 1259/2011. Явно прослеживается кумуляция диоксинов в печеночной ткани по сравнению с мышечной (разница 28 %) и сывороткой крови (разница 78 %).

Исследования проводились в отделе химических исследований ФГБУ ЦНМВЛ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Желтов В.А. Особенности диагностики отравлений животных диоксинами // Ветеринария. 2002. № 4. С. 35–38.
2. Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Степанов В.И. и др. Принципы диагностики отравлений животных // Ветеринария. 2010. № 6. С. 56–58; Тремасов М.Я., Иванов А.А. Диоксин вновь вернулся // Ветеринарный врач. 2011. № 1. С. 2–3.

# УЧАСТКИ ГОМОЛОГИИ К ЭНДОГЕННЫМ РЕТРОВИРУСАМ В ГЕНОМАХ ОВЕЦ

***И.В. Колесов, М.А. Елькина***

*Центр нанобиотехнологий ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49  
E-mail: cnbt@timacad.ru; processor95@mail.ru*

Аборигенные породы подвержены действию уникальных эколого-географических условий окружающей среды, где основу адаптации составляет генетическая изменчивость. Благодаря балансу между изменчивостью и устойчивостью domesticiрованные виды животных распространились по разным областям всего мира с разными, не всегда благоприятными, экологическими условиями. В настоящее время для изучения и оценки генофондов популяций сельскохозяйственных животных используются различные методы «геномного сканирования», такие, например, как IRAP-PCR (Iter-Retrotransposon Amplified Polymorphism), в результате которого получают спектры фрагментов ДНК разной длины, расположенные между двумя инвертированными повторами мобильных элементов [1]. В данной работе представлены результаты генотипирования двух пород степных овец, калмыцкой и эдильбаевской, и карачаевских овец, из района Северного Кавказа.

Геномную ДНК выделяли с помощью коммерческого набора реагентов «ДНК-Экстрен-1». Полилокусное генотипирование пород и внутривидовых типов овец проводили методом IRAP-PCR с использованием в качестве праймеров фрагментов, гомологичным длинным концевым повторам (Long Terminal Repeats, LTR) эндогенных ретровирусов растений (BARE-1, мобильный элемент ячменя и RawS 5 – ржи) и млекопитающих (BERV  $\beta$ -3 и BERV K-1). Полученные в результате PCR фрагменты ДНК разделяли методом горизонтального электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле, содержащем бромистый этидий. Визуализацию продуктов амплификации проводили в УФ-излучении. Весь спектр полученных локусов был условно поделен на 3 части: легкую (до 949 п.о.), среднюю (от 950 п.о. до 1949 п.о.) и тяжелую (от 1950 п.о. до 3000 п.о.) [2]. По полученным результатам было посчитано отношение полиморфных локусов в каждой части спектра к общему количеству полиморфных локусов.

В зоне тяжелых длин фрагментов спектра, полученного с использованием праймера, гомологичного терминальному участку ретротранспозона BARE-1, наибольшее количество полиморфных локусов отмечается у карачаевских овец (0,50), несколько меньше их в этой части спектра у калмыцких и эдильбаевских овец из хозяйства «Бирлик» (0,40 и 0,33, соответственно). Доля полиморфных локусов в легкой и средней частях спектра приблизительно одинакова, за исключением несколько завышенного ее значения у калмыцких овец по сравнению с другими породами (0,40). В верхней зоне спектра (зона тяжелых длин фрагментов) праймера RawS 5 полиморфные локусы были обнаружены только у калмыцкой породы овец (1,0). В легкой части спектра наибольшее количество полиморфных фрагментов было отмечено у карачаевских овец (0,88). Наибольшее количество полиморфных локусов в средней части спектра было отмечено у бирликских овец (0,75, наименьшее – у карачаевских (0,13). В легкой части спектра праймера BERV  $\beta$ -3 полиморфные локусы не встречались ни у одной породы овец. По распределению полиморфных локусов средней и тяжелой части спектра породы овец значительно не отличались друг от друга, за исключением суюндукского типа, где полиморфные локусы содержатся только в средней части и их доля составляет 1,0. Спектры фрагментов, полученные с применением праймера BERV k-1, не отличались у исследованных групп овец, и доля полиморфных локусов тяжелой, средней и легкой зон фрагментов составила, соответственно, от 0,38 до 0,5, от 0,25 до 0,40, от 0,17 до 0,25.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что наибольшее количество полиморфных локусов в легкой части спектра у всех исследованных групп овец представлено в спектрах праймера BERV k-1, наименьшее – в спектрах праймера BERV  $\beta$ -3. Полиморфизм средних длин встречался чаще в спектрах праймеров RawS 5 и BERV  $\beta$ -3. Спектры тяжелых фрагментов всех IRAP-праймеров не отличались у исследованных групп овец, за исключени-



ем спектра праймера Paws 5 у калмыцких овец, где все локусы были полиморфны, тогда как у остальных овец таковые отсутствовали. Мобильные элементы различного происхождения, растительные ретротранспозоны (BARE-1 и Paws 5), а также эндогенные ретровирусы млекопитающих (BERV) распределены в геномах разных пород домашней овцы неодинаково. Наилучшим образом породы овец отличают спектры фрагментов праймера Paws 5. При этом невозможна дифференциация внутривидовых типов эдильбаевской овцы. Для этих целей удобнее использовать праймер BERV β-3.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что фрагменты LTR ретротранспозонов BARE-1 и BERV k-1 нейтральны по отношению отбора, тогда как мобильный элемент Paws 5 вовлечен в породную дифференциацию овец, разводимых в разных географических зонах, а ретротранспозон BERV β-3 – во внутривидовую дифференциацию эдильбаевской овцы. Кроме этого, следует отметить, что источником сундукского типа эдильбаевских овец является район Азгирского полигона ядерных испытаний, тогда как хозяйство «Бирлик» расположено в биосферном заповеднике. Влияние хронического экологического стресса может проявляться в полиморфизме определенных элементов генома, к которым вероятно относится вероятно BERV β-3. При хроническом воздействии стрессовых факторов окружающей среды и особенностей разведения сформировался уникальный генофонд разных пород и внутривидовых типов овец, особенности которого могут быть оценены с использованием IRAP-маркеров.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Глазко В.И., Глазко Г.В. Введение в генетику: биоинформатика, ДНК-технология, геновая терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболомика. Киев: КВИЦ, 2003. 640 с.
2. Елькина М.А. Участки гомологии к эндогенным ретровирусам в геномах доместифицированных и близкородственных диких видов животных и растений // Мат-лы 6-й Междунар. науч.-практ. конф. “Сохранение разнообразия животных и охотничье хозяйство в России”. М., 2015

---

## ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ МОЛОЧНОЙ И МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

***И.В. Лазебная<sup>1</sup>, А.В. Перчун<sup>1,2</sup>, ОЕ. Лазебный<sup>3</sup>, Г.Е. Сулимова<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, ГСП-1, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Губкина, 3

<sup>2</sup>Костромской ГСХА, 156530, Российская Федерация, Костромская обл., Костромской район, пос. Караваяво, Учебный городок, Караваявская с/а, 34

<sup>3</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26

E-mail: Lazebnaya@mail.ru

Проведен анализ внутривидовой изменчивости ряда генов-кандидатов (*GH*, *CSN3*, *Pit1*, *PRL*) с использованием собственных и привлеченных данных по российским и зарубежным породам. Внутривидовая межпопуляционная изменчивость гена *GH* (rs41923484, *V/L*, экзон 5) (рис. а), оцененная по значениям *F<sub>st</sub>* для 29 популяций (*n*=2748), принадлежащим к 20 породам крупного рогатого скота, составляет *F<sub>st</sub>*=0,39 и варьирует в пределах от 0 до 0,61. Максимальные значения *F<sub>st</sub>* выявлены между породами турано-монгольского корня, монгольской, калмыцкой и казахской белоголовой, и остальными породами, что связано с их происхождением и нашло отражение в формировании двух кластеров. Внутри одного из них самостоятельные подкластеры формируют слабо дифференцированные друг от друга вы-

борки костромской (пять стад) и голштинской (три стада) пород: значения  $F_{st}$  варьируют от 0 до 0,067 (среднее – 0,012) и выборки зебувидных пород, таких как неллор, бутана и кенана.

По гену *CSN3* (*A/B*, экзон 4) подразделенность 25 пород, суммарно состоящих из 47 выборок ( $n=6672$ ), представленных на рисунке б, составляет 0,09. Выборки черно-пестрой и ярославской пород практически идентичны, соответственно, значения  $F_{st}$  равны 0,001 и 0,005. Стада холмогорской (от 0 до 0,020, среднее – 0,009), красно-пестрой (от 0,001 до 0,036, среднее – 0,021) и симментальской пород (0,001 до 0,044, среднее – 0,026) характеризуются слабой дифференциацией. Заметный уровень различий установлен между стадами у якутской (0,073) и костромской пород (от 0 до 0,219, среднее – 0,066). Наблюдаемые меньшие отличия между породами крупного рогатого скота по рассматриваемому полиморфизму гена *CSN3* по сравнению с геном *GH* связаны, скорее всего, с разным селекционным давлением, оказываемым на них, поскольку аллели гена *CSN3* в отличие от аллелей гена *GH*, непосредственно ассоциированы с физиологически важным признаком для жизнеспособности – белковым составом молока.

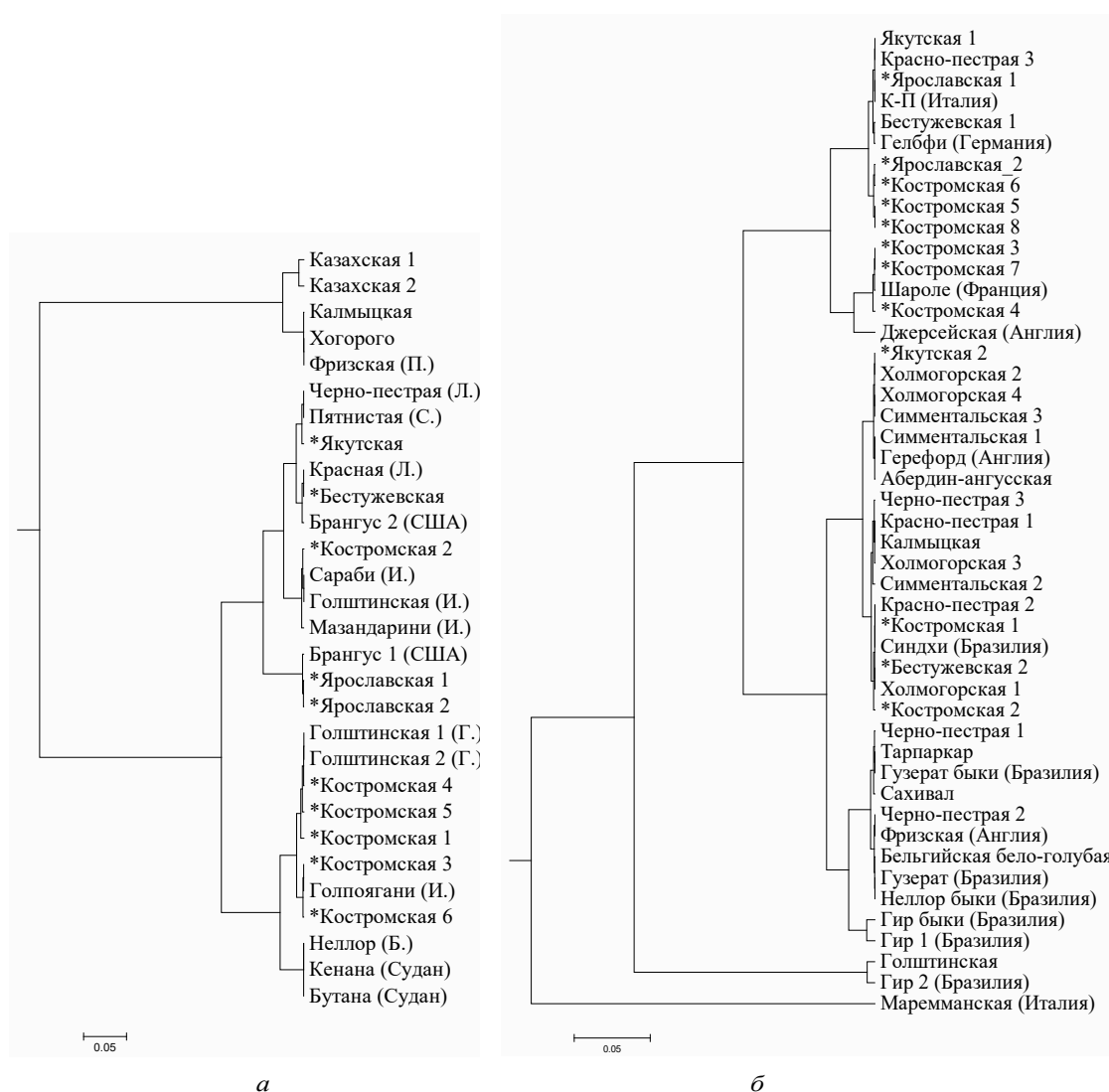


Рис. Дерево генетических расстояний  $F_{st}$ , полученное методом UPGMA, на основе аллельной изменчивости генов *GH* (*V/L*, экзон 5)(а) и *CSN3* (*A/B*, экзон 3) (б) российских и зарубежных популяций и пород крупного рогатого скота: номерами обозначены отдельные популяции пород, \* – собственные данные, К-П – красно-пестрая, Г. – Германия, Л. – Литва, И. – Иран, Б. – Бразилия, С. – Словакия

# ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА «БЕЛОЛИН» НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА СОБАК И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

*Р.С. Ласковец*

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23  
E-mail: laskovets84@mail.ru*

В процессе филогенетического развития в пищеварительном тракте сформировалась микроэкологическая система, характерная как для каждого вида животных и человека, так и для каждого отдела желудочно-кишечного тракта.

В последнее время наметилась тенденция к учащению ранее редких случаев таких заболеваний кишечника собак, как болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, хронический энтероколит. Бактерии рассматриваются, наряду с токсинами корма и вирусами, как активные участники патогенеза этих болезней.

К наиболее распространенным средствам поддержания баланса кишечной микрофлоры у собак на оптимальном уровне и ее коррекции относятся пробиотики – препараты на основе живых микроорганизмов, которые обладают способностью целенаправленно регулировать кишечную микроэкологию и восстанавливать эубиоз.

Пробиотик «Белолин» входит в группу самоэлиминирующихся антагонистов, содержит в своем составе два штамма спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, которые отличаются по физико-биохимическим свойствам и дополняют друг друга по спектру антагонистической активности.

Цель исследований – определить состав кишечной микрофлоры служебных собак, их клиническое состояние и физиологические функции кишечника на фоне применения пробиотика «Белолин» с лечебной целью в сравнительном аспекте.

В качестве объекта исследования был избран питомник служебных собак в/ч 2625, г. Вязьма Смоленской области.

Для опыта было отобрано две группы собак разных пород в возрасте от 6 месяцев до 5 лет, по 12 голов в каждой: опытная группа включала 8 собак породы немецкая овчарка, 1 – лабрадор-ретривер, 3 – бельгийская овчарка; контрольная группа состояла из 7 собак породы немецкая овчарка, 3 – лабрадор-ретривер, 2 – английский кокер-спаниель.

У всех собак каждой группы с периодичностью примерно один раз в неделю проявлялись признаки расстройства пищеварения: частая дефекация, нарушение переваримости корма, запоры, обильное газообразование.

Опытной группе собак в течение 5 дней внутрь давался препарат «Белолин» в дозе 0,8 г на голову в сутки, животным контрольной группы скармливали препарат плацебо.

От собак опытной и контрольной групп до постановки опыта и после окончания опыта отбирали пробы фекалий для бактериологического и паразитологического исследования, а также пробы крови для общего анализа и биохимического исследования.

В течение опыта проводилось наблюдение за общим состоянием собак, термометрия, клинический осмотр животных.

Яйца гельминтов и ооцисты простейших в кале у собак контрольной и опытной групп до проведения опыта обнаружены не были. Результаты биохимического исследования и клинического анализа крови у животных обеих групп до и после опыта от референсных значений не отклонялись.

При проведении микробиологического исследования патогенные бактерии родов *Klebsiella*, *Hafnia*, *Serratia*, *Morganella*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *Salmonella* у животных опытной и контрольной групп до начала постановки опыта и после окончания опыта не были выявлены.

Количественный состав микрофлоры кишечника собак опытной и контрольной групп до проведения опыта был близок к нормальному для данного вида животных, тем не менее отмечался дефицит лактобацилл и бифидобактерий, на фоне повышенного содержания эшерихий, протей, грибов рода *Candida*.

После проведения опыта в составе микрофлоры кишечника служебных собак опытной группы произошел сдвиг на порядок в сторону увеличения бифидо- и лактофлоры, произошло уменьшение количества условно-патогенных бактерий.

До проведения опыта состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта собак контрольной группы соответствовал аналогичному уровню опытной группы, по истечению 5 дней (после завершения опыта) произошли незначительные изменения, т.е. качественный и количественный состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта собак контрольной группы практически не изменился.

Таким образом, можно сделать вывод, что применение пробиотика «Белолин» собакам в течение 5 дней в дозе 0,8 г на голову в сутки перорально благоприятно отразилось на составе микробиоты желудочно-кишечного тракта служебных собак, позволило снизить риск нежелательного развития условно-патогенных микроорганизмов и снизить частоту появления признаков нарушений работы желудочно-кишечного тракта собак.

---

## ПОЛИЛОКУСНОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ (ГЕНОМНОЕ СКАНИРОВАНИЕ) ПОРОД ЛОШАДЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОЦЕНОК ПОЛИМОРФИЗМА ФРАГМЕНТОВ ДНК, ФЛАНКИРОВАННЫХ ИНВЕРТИРОВАННЫМИ ПОВТОРАМИ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ (ISSR-PCR МАРКЕРЫ)

*П.И. Отраднов, Т.А. Эркенов*

*Центр нанобиотехнологий ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева.127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49  
E-mail: cnbt@timacad.ru*

В целях подбора информативных полилокусных молекулярно-генетических маркеров для выявления «генофондного стандарта» и улучшения селекционной работы с породами лошадей (*Equus caballus*), выполнено полилокусное генотипирование лошадей двух местных и трех спортивных пород с использованием метода ISSR-PCR [1].

Для выделения геномной ДНК из цельной крови использовался набор реагентов ДНК-Экстракт-1 (ЗАО «Синтол, г. Москва»). PCR проводили на амплификаторе Терцик («ДНК-технология», Россия), программа амплификации для образцов включала первичную денатурацию (94 °С, 2 мин); 30 циклов денатурации (94 °С, 30 с), отжига праймера (55 °С, 30 с) и элонгации (72 °С, 2 мин); финальную элонгацию (72 °С, 10 мин). В качестве праймеров были выбраны последовательности (AG)<sub>9</sub>Си (GAG)<sub>6</sub>С, являющиеся участками микросателлитных локусов с «якорным» нуклеотидом на 3'-конце. Электрофоретический анализ продуктов амплификации проводили с использованием 1,5 %-ного агарозного геля в 1хТБЕ-буфере с добавлением бромистого этидия до конечной концентрации 0,5 мкг/мл при силе тока 100 мА и напряжении 100 В (Продолжительность разделения – 2 ч). Для визуализации применяли источник ультрафиолетового излучения – трансиллюминатор УВТ-1 («Биоком», Россия). Размер ампликонов определяли при помощи

маркера молекулярных масс DNA 100 bp + 1,5 Kb (12 фрагментов от 100 до 3000 п.о.) (M27, «СибЭнзим», Россия).

ДНК выделяли из образцов крови следующих пород лошадей: карачаевской, алтайской, американской стандартбредной, русской и орловской рысистых.

Наибольшие значения доли полиморфных локусов и полиморфного информационного содержания спектров продуктов амплификации фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов, типичны для местных пород – карачаевской и алтайской, по сравнению с породами спортивных рысаков. Полиморфизм как алтайских и, карачаевских в большей степени, так и рысистых пород в меньшей степени, наблюдался в диапазоне длин фрагментов ДНК от 360 до 750 пар оснований (п.о.). Можно ожидать, что относительно большая консолидированность спортивных рысистых пород обусловлена высокой интенсивностью искусственного отбора. В спектрах продуктов амплификации у каждой породы встречаются уникальные по своей длине фрагменты ДНК и их сочетание. У карачаевских лошадей обнаружен ДНК фрагмент длиной около 2000 п.о., отсутствовавший в спектрах продуктов амплификации ДНК лошадей всех других исследованных пород.

Исходя из результатов полилокусного генотипирования, выполненного на основе ISSR-PCR маркеров, можно утверждать, что в дифференциацию исследованных групп и пород лошадей значительно в большей степени вовлекаются короткие и средние участки генома, фланкированные инвертированными повторами микросателлитов. Интересно отметить, что количество таких фрагментов ДНК и их полиморфизм оказываются близкими, не смотря на то, что по результатам секвенирования генома домашней лошади, представленным в ГенБанк, частота встречаемости микросателлита AG существенно выше, чем GAG. То есть, распространение микросателлитов с разными коровыми мотивами в геномах домашней лошади отличается от представленности их инвертированных повторов на коротких расстояниях. Накопленные литературные данные свидетельствуют о тесной связи между инвертированными микросателлитными повторами и различными вариантами мобильных генетических элементов [2]. Можно ожидать, что наблюдаемые нами межпородные отличия по полиморфизму фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов, отражают процессы встройки/выщеплений мобильных элементов и мутационных событий в геномных мишенях их встраивания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиол. и биохим. культ. растений. 2002. № 4. С. 279–296
2. Глазко В.И., Гладырь Е. А., Феофилов А.В., Бардуков Н.В., Глазко Т.Т. ISSR-PCR Маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих // Сельскохозяйственная биология. 2013. № 2. С. 71–76. doi: 10.15389/agrobiology.2013.2.71rus

---

## НЕОБХОДИМОСТЬ РАЗРАБОТКИ НОВОГО СИБИРЕЯЗВЕННОГО БАКТЕРИОФАГА

*Н.А. Феокистова, Д.А. Васильев, М.А. Лыдина, Е.И. Климушкин, К.В. Белова*

*Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия им. П.А. Столыпина, 432011, Российская Федерация, г. Ульяновск, б. Новый Венец, 1  
E-mail: ugsha@yandex.ru*

По мнению эпизоотологов и эпидемиологов, современная ситуация по сибирской язве на фоне значительного снижения заболеваемости в Российской Федерации не расценивается как благополучная. В настоящее время по-прежнему регистрируются эпизоотии

среди животных и эпидемические очаги среди населения. Известно, что основой оценки любого риска, в том числе и эпидемиологического, является характеристика опасности. Именно опасность, по определению академика РАМН Б.Л. Черкасского, представляет собой источник или фундамент риска и позволяет оценивать сам риск, а соответственно, прогнозировать эпидемиологическую ситуацию. На сегодняшний день возникла необходимость разработки критериев и алгоритма действий для оценки эпизоотологической и эпидемиологической опасности сибиреязвенных захоронений, находящихся на территории РФ с учетом достижений современной науки.

Одним из направлений диагностики и профилактики сибирской язвы является проблема современной клинической диагностики зооантропоноза. Клинические проявления инфекции у людей, особенно висцеральных форм, включая регистрируемую в последние десятилетия кишечную, не всегда позволяют заподозрить сибирскую язву. Трудно диагностируется прижизненно сибирская язва и у сельскохозяйственных животных. Увеличение числа малых форм бизнеса в сельском хозяйстве также усложняет контроль ветеринарной службы за поголовьем. Почти все территории особо высокого риска заражения находятся в степной и лесостепной зонах. Это связано с уникальной способностью возбудителя болезни десятилетиями сохраняться в виде спор в почве тех мест, где погибли или были захоронены павшие от сибирской язвы животные. В зарегистрированных кадастрах в части случаев указаны лишь населенные пункты или хозяйства, где были случаи болезни, а не конкретные места гибели или захоронения животных. Не везде сибиреязвенные скотомогильники имеют соответствующую систему ограждений. Поэтому при выполнении разного рода земляных работ есть риск заражения сибирской язвой людей и животных. Также вскрытие сибиреязвенных скотомогильников происходит в результате эрозии почв и разливов рек.

Вышесказанное свидетельствует о необходимости создания технологии оценки почв региона на наличие возбудителя сибирской язвы быстрыми и простыми методами. Использование высокоспецифичных бактериофагов в простых (в постановке), быстрых (по получению результата) и недорогих (не нужно специального оборудования и высококвалифицированных кадров) реакциях позволит осуществлять мониторинг сельских территорий, которые в настоящее время с приходом частных инвесторов активно развиваются в Приволжском федеральном округе.

Применение фагодиагностики в медицинской и ветеринарной практике также отлично себя зарекомендовало, однако набор бактериофагов для исследований необходимо постоянно расширять с целью выявления новых штаммов сибирской язвы, так как активное применение для лечения людей и животных антибиотиков, инактивированных и живых вакцин привело к тому, что в окружающей среде фиксируются микроорганизмы с измененными свойствами, циркулируют атипичные штаммы возбудителя сибирской язвы, которые не поддаются диагностике известными методами: генотипическими и бактериологическими, антраксин-кожным тестом.

В настоящее время коллективом авторов выделен и селекционирован новый сибиреязвенный бактериофаг, изучены его основные биологические свойства, знание которых необходимо для разработки сибиреязвенного фагового биопрепарата и параметров его практического применения для диагностики, лечения и профилактики инфекции. Проведенные исследования по изучению биологических свойств сибиреязвенного бактериофага показали, что изучаемый бактериофаг имеет литическую активность –  $1,0 \times 10^8 \pm 0,1 \times 10^8$  БОЕ в 1 мл фаголизата, которая не изменяется при хранении в условиях бытового холодильника (2–4 °С) без добавления консерванта. Установлено, что выделенный и селекциони-

рованный авторами бактериофаг строго специфичен в пределах вида *Bacillus anthracis* и не лизирует культуры *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mesentericus (pumilus)*, *Bacillus coagulans*.

Выше названные характеристики сибиреязвенного бактериофага, выделенного и селекционированного авторами в 2015 г., свидетельствуют, что он может быть использован для конструирования биопрепарата для фагоиндикации и фагоидентификации бактерий *Bacillus anthracis* в объектах санитарного надзора.

*Научные исследования проводятся при финансовой поддержке государства в лице Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа «УМНИК»).*

---

## **ВНУТРИПОРОДНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КАЛМЫЦКОГО СКОТА ПО МИКРОЯДЕРНОМУ ТЕСТУ**

***О.С. Фомина, Э.А. Николаева***

*Центр нанобиотехнологий ФГБОУ ВО РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49*

*E-mail: cnbt@timacad.ru*

Нестабильность хромосомного аппарата тесно связана с уменьшением репродуктивного успеха у видов млекопитающих. Современные задачи сохранения генетических ресурсов местных пород крупного рогатого скота, обусловленные их повышенным адаптивным потенциалом по сравнению с заводскими породами, и высокой скоростью сокращения генетических ресурсов животных сельскохозяйственных видов (FAO, 2010), приводят к необходимости простых методов контроля нестабильности генетического аппарата. В этих целях широко используются разные варианты микроядерного теста – подсчета доли клеток, несущих микроядра, возникающие в процессе предшествующих клеточных делений в результате формирования вокруг обрывков или целых отставших хромосом ядерной оболочки. Один из вариантов такого теста – подсчет эритроцитов с микроядрами на 1000 эритроцитов. В настоящей работе выполнен сравнительный анализ частот встречаемости эритроцитов с микроядрами (ЭМЯ) у калмыцкого скота, воспроизводимого в Калмыкии в хозяйстве «Харада» и в хозяйстве «Лебедь» Астраханской области.

Для проведения микроядерного теста получали мазки крови, полученной из яремной вены животных. Каплю крови смешивали с физиологическим раствором (1:1), затем делали мазки на предметном стекле, которые высушивали и фиксировали этиловым спиртом (96 %) в течение 20–30 минут. Затем мазки окрашивали красителем Романовского-Гимзы. Долю (в промилях) эритроцитов с микроядрами рассчитывали среди 3 000 эритроцитов (%). Подсчеты проводили на препаратах под иммерсией под бинокулярным микроскопом («Motic») со встроенным цифровым фотоаппаратом (с увеличением  $\times 1000$  раз).

Калмыцкая порода крупного рогатого скота появилась в России более трехсот лет назад из Монголии. Предполагается, что предками этих животных являются азиатские туры и за счет этого калмыцкая порода обладает повышенной резистентностью и способностью к питанию довольно скудными кормами. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что животные хозяйства «Лебедь» статистически достоверно отличаются от коров хозяйства «Харада» повышенной частотой встречаемости эритроцитов с микроядрами (хозяйство «Лебедь»: коровы –  $2,4 \pm 0,31$ , быки –  $2,63 \pm 0,12$ , телочки –  $1,22 \pm 0,12$ ; хозяйство «Харада»: коровы –  $1,34 \pm 0,17$ , быки –  $2,25 \pm 0,11$ , телочки –  $0,97 \pm 0,07$ ). Можно было бы ожидать, что наблюдаемые отличия обусловлены экологическими факторами, однако по эколого-географическим характеристикам

хозяйства «Харада» и «Лебедь» существенно не отличаются друг от друга. В то же время, поскольку основой формирования стада хозяйства «Лебедь» были животные, вывезенные из Калмыкии, можно предположить, что повышенная геномная нестабильность обусловлена повышенной частотой близкородственных скрещиваний в этой производной группе животных по сравнению с генофондом исходной породы. Однако не исключено и возможное влияние таких паратипических факторов, как погодные условия, рационы животных и их эксплуатация.

Выполненный сравнительный анализ калмыцкого скота в хозяйствах «Лебедь» и «Харада» по микроядерному тесту (доле эритроцитов с микроядрами) свидетельствует о том, что в хозяйстве «Лебедь» у животных повышена геномная нестабильность, что может быть связано с их сниженным репродуктивным успехом по сравнению с животными хозяйства «Харада».



### ПОЛИМОРФИЗМ В-ЛАКТОГЛОБУЛИНА У КАЛМЫЦКОГО И ГОЛШТИНИЗИРОВАННОГО ЧЕРНО-ПЕСТРОГО КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Г.А. Звягельский, Н.В. Бардуков*

*Центр нанобиотехнологий ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49  
E-mail: cnbt@timacad.ru, krok77@mail.ru*

Ген β-лактоглобулина (LGB) кодирует сывороточный белок молока жвачных, у крупного рогатого скота ген локализован в хромосоме 11. С использованием цепной полимеразной реакции с последующим рестрикционным анализом выделено два основных аллельных варианта (А и В), выявлены их определенные ассоциации с характеристиками молочной продуктивности (содержание протеина в молоке, содержание жира в молоке, среднесуточный удой и т.д.) [1, 2]. Так, различия в суточном удое между животными с генотипом АА и животными, несущими в своем генотипе аллель В, могут составлять от 200 до 700 кг молока (в пользу последних), преимущества по содержанию жира в молоке – от 8 до 27 кг на 1000 кг молока [2]. Целью наших исследований был сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов по LGB у местной калмыцкой породы, в основном, мясного направления продуктивности, и специализированной молочной породы черно-пестрого голштинизированного скота, что может способствовать увеличению эффективности селекционной работы с учетом генетически детерминированных особенностей молочной продуктивности животных.

Выполнен рестрикционный анализ продуктов амплификации фрагмента гена LGB у 31 коровы калмыцкого крупного рогатого скота хозяйства «Харада», 33 животных калмыцкого крупного рогатого скота хозяйства «Лебедь» и 48 коров черно-пестрого голштинизированного скота хозяйства «Степаньково» московской области. Тотальную геномную ДНК выделяли из цельной крови на сорбенте с помощью набора реагентов «S-сорб» компании «Синтол». Для амплификации фрагмента гена LGB нами подобраны следующие праймеры: 5'-TGTGCTGGACACCGACTA-CAAAAAG-3'; 5'-GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT-3'. Праймеры были подобраны таким образом, чтобы амплифицированный фрагмент ДНК включал в себя сайты опознавания, специфичные для А- и В-аллельных вариантов. Далее выполняли рестрикционный анализ с использованием рестриктазы HaeIII. Результаты амплификации и рестрикции визуализировали на горизонтальном электрофореze в 2 %-ном агарозном геле с использованием бромистого этидия.

Среди 48 образцов крови черно-пестрого голштинизированного скота генотип АА встречался у 8,33 % животных, генотип АВ – 47,92 % и ВВ у 43,75 % коров. У 31 коровы калмыцкой породы хозяйства «Харада» отсутствовали носители генотипа АА, генотип АВ обнаружен у 54,84 % животных, генотип ВВ – у 45,16 %. У 33 калмыцких коров хозяйства «Лебедь» также отсутствовали носители генотипа АА, генотип АВ встречался у 36,36 % животных, генотип ВВ – у 63,34 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что у калмыцкого скота, при полном отсутствии гомозигот АА, частота встречаемости аллельного варианта В, в общем, заметно выше, чем у черно-пестрого голштинизированного скота (0,73 в хозяйстве «Харада», 0,82 в хозяйстве «Лебедь» и 0,68 у молочного скота).

Полученные данные свидетельствуют о том, что калмыцкий скот имеет определенные преимущества по присутствию аллельного варианта В по гену LGB, ассоциированному с же-

лательными характеристиками молочной продуктивности, по сравнению с заводским черно-пестрым голштинизированным скотом, что необходимо учитывать при разработках генетически обоснованных программ по совершенствованию и сохранению калмыцкого скота.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Глазко В.И., Глазко Г.В. Введение в генетику: биоинформатика, ДНК-технология, геновая терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболомика. Киев: КВИЦ, 2003. 640 с.
2. Гареева И.Т. Взаимосвязь полиморфных вариантов генов пролактина и лактоглобулина с молочной продуктивностью коров: Дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург-Пушкин, 2012.

---

## ИЗМЕНЕНИЕ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦИТОХРОМОВ P450 СЕМЕЙСТВА CYP74 В РЕЗУЛЬТАТЕ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА

***Е.К. Бессолицына, Е.О. Смирнова, С.С. Горина, В.С. Ермилова, Я.Ю. Топоркова,  
Л.Ш. Мухтарова, Ю.В. Гоголев, А.Н. Гречкин***

*Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, Российская Федерация, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31 а/я 30  
E-mail: bessolicina\_elen@mail.ru*

В отличие от большинства цитохромов P450, являющихся монооксигеназами, ферментам CYP74 не требуется в качестве субстрата ни молекулярный кислород, ни окислительно-восстановительный партнер. В качестве субстрата и донора кислорода ферменты этого семейства используют гидроперекиси жирных кислот. В связи с этим их кислород-связывающий домен является вырожденным; у ферментов CYP74 он заменен доменом IHCD, который участвует в каталитическом действии. Ферменты CYP74, включающие в себя алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС), превращают гидроперекиси жирных кислот в разнообразные по своей структуре продукты: окиси аллена, дивиниловые эфиры, полуацетали и эпокси спирты. АОС и ДЭС функционируют как дегидразы; ГПЛ и ЭАС являются изомеразы.

Анализ первичных структур ферментов CYP74 выявил несколько консервативных доменов, некоторые из которых находятся внутри субстрат-распознающих сайтов, типичных для всех цитохромов P450. Был выбран ряд сайтов внутри этих доменов, где были проведены замены аминокислотных остатков. Полученные данные демонстрируют взаимопревращения ферментов CYP74 в результате сайт-направленного мутагенеза. Три мутации привели к полному превращению: АОС в ГПЛ, ДЭС в АОС, ГПЛ в ЭАС. Несколько мутаций привели к изменениям в различной степени в каталитической активности. Кроме того, были получены мутанты с двойной и тройной активностями. В результате сайт-направленного мутагенеза были выявлены первичные детерминанты катализа CYP74.

Полученные данные подтверждают предположение о сходстве механизмов катализа у разных ферментов CYP74 и свидетельствуют о том, что эпоксиаллильный радикал представляет собой не только промежуточный продукт катализа CYP74, но и своеобразную точку переключения в механизме катализа CYP74. Первой стадией катализа у всех ферментов CYP74 является гомолиз гидроперокси-группы с образованием эпоксиаллильного радикала и соединения II ( $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{-OH}$  комплекс). В зависимости от первичной структуры фермента эпоксиаллильный радикал

претерпевает различные превращения. Второй стадией у ЭАС является присоединение гидроксильного радикала с образованием эпоксигидрокси-октадеценовой кислоты, которая в результате гидролиза превращается в ряд тригидрокси-октадеценовых кислот. Второй стадией у АОС является отщепление атома водорода с образованием экзо-двойной связи при окислении, что приводит к образованию окиси аллена. У ГПЛ и ДЭС вторая стадия иная – гомолиз углерод-углеродной связи в окислении с образованием винилоксикарбинильного радикала. Заключительным этапом катализа ДЭС является отщепление атома водорода от радикала с образованием второй двойной связи дивинилового эфира. Заключительным этапом катализа ГПЛ является рекомбинация винилоксикарбинильного радикала с гидроксильным радикалом с образованием полуацетала, который распадается на альдегид и оксокислоту.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (15–04–04108-а, 15–04–08310-а, 14–04–01532-а) и МК-6529.2015.4.

---

**ОЦЕНКА ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ  
И УРОВНЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ВНУТРИВИДОВЫХ ФОРМ  
МАЛОЙ ЛЕСНОЙ (*Sylvaemus uralensis*)  
И ЖЕЛТОГОРЛОЙ (*S. flavicollis*) МЫШЕЙ  
ПО ТРЁМ МИТОХОНДРИАЛЬНЫМ ГЕНАМ.  
НЕРАВНОМЕРНОСТЬ ТЕМПОВ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОВ  
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК  
В РАЗНЫХ ФИЛЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЯХ**

***А.С. Богданов<sup>1</sup>, В.В. Стахеев<sup>2</sup>, А.С. Саидов<sup>3</sup>, Ю.М. Ковальская<sup>4</sup>***

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26

<sup>2</sup>Институт аридных зон Южного научного центра РАН, 344006, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41

<sup>3</sup>Институт зоологии и паразитологии им. Е.Н. Павловского Академии наук Республики Таджикистан, Таджикистан, 734025, г. Душанбе, п/я-70

<sup>4</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр., 33

E-mail: bogdalst@yahoo.com

Как было установлено ранее [1–3], вид *Sylvaemus flavicollis* представлен двумя генетически близкими парapatричными формами (северной и южной), а *S. uralensis* – четырьмя, значительно отличающимися друг от друга (европейской и азиатской расами, а также памирской и гималайской формами с неясным систематическим положением). С целью уточнения масштабов дифференциации и филогенетических связей внутривидовых форм малой лесной и желтогорлой мышей мы выполнили их сравнение друг с другом и с прочими видами рода *Sylvaemus* по нескольким митохондриальным генам – полному гену цитохрома *b* (*cyt b*, 1144 п.н.), начальному участку гена первой субъединицы цитохромоксидазы (*COI*, «Barcode region», 654 п.н.) и полному контрольному региону (*D-loop*, 936 п.н. с учётом делеций и вставок). Для видов *Sylvaemus* налицо существенные различия в топологии древ, построенных по разным генам (см. рис.).

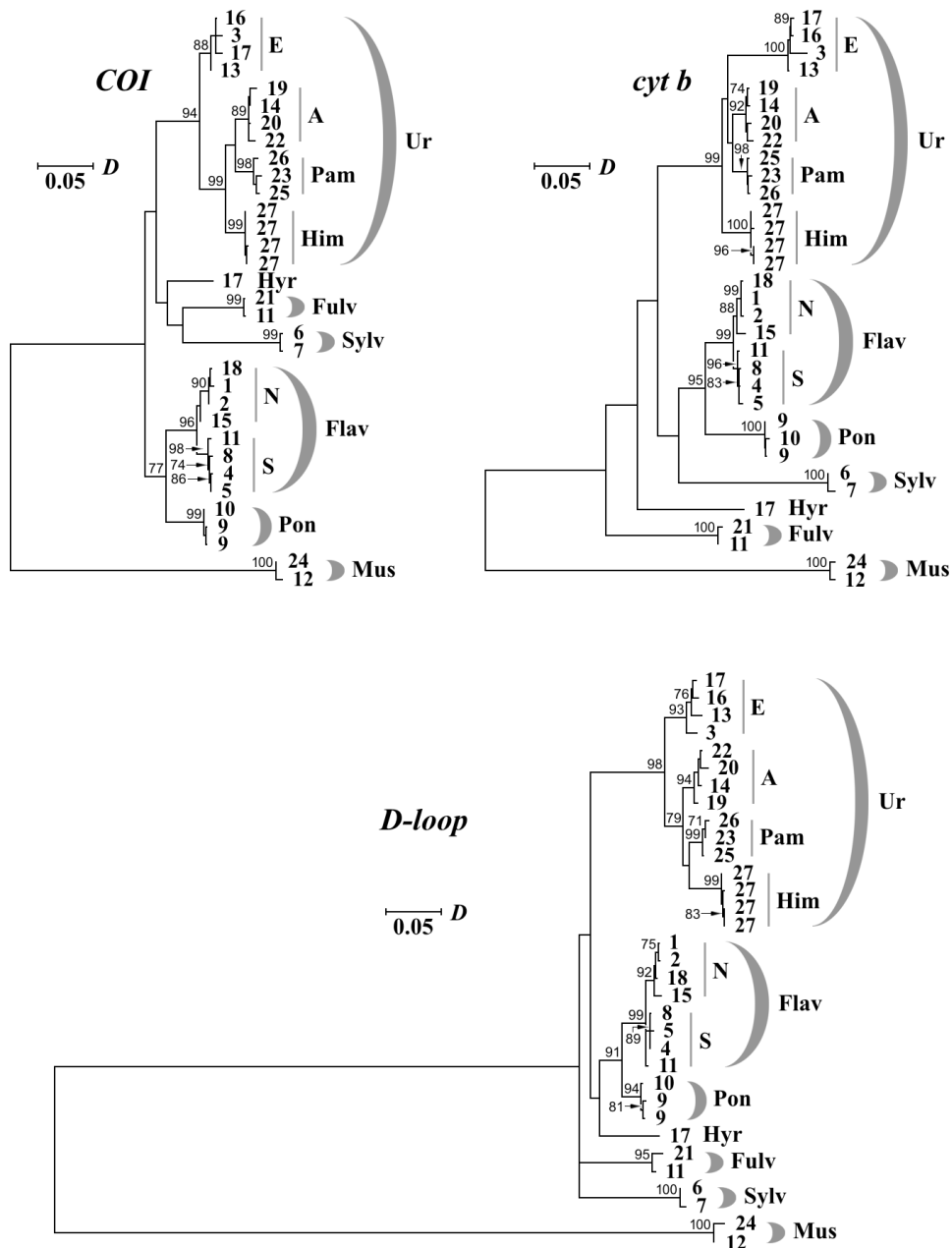


Рис. Дендрогаммы, построенные по методу Maximum likelihood и модели нуклеотидных замен TN93+G (Tamura-Nei model with gamma distributed) при сравнении нуклеотидных последовательностей генов *COI*, *cyt b* и *D-loop* отдельных особей лесных мышей. В узлах ветвления дендрогамм указаны значения бутстреп-индекса, превышающие 70 %, а справа от ветвей – номера пунктов отлова. *D* – масштабная шкала генетических дистанций. Сокращения и обозначения: Ur – *Sylvaemus uralensis* (E – европейская раса, A – азиатская раса, Pam – памирская форма, Him – гималайская форма), Flav – *S. flavicollis* (N – северная форма, S – южная форма), Pon – *S. ponticus*, Hyr – *S. hyrcanicus*, Fulv – *S. fulvipectus*, Sylv – *S. sylvaticus*, Mus – *Mus musculus* (аутгруппа). Пункты отлова: 1 – Московская обл., окр. г. Подольск; 2 – г. Чебоксары; 3 – Рязанская обл., Сараевский р-н; 4 – Пензенская обл., Белинский р-н. Белгородская обл.: 5 – Губкинский р-н; 6 – Борисовский р-н. Ростовская обл.: 7 – г. Ростов-на-Дону; 8 – Цимлянский р-н. Краснодарский край: 9 – окр. г. Хоста; 10 – окр. пос. Красная Поляна. 11 – Юго-Восточный Крым; 12 – г. Лабытнанги; 13 – Омская обл., Тюкалинский р-н; 14 – окраина г. Горно-Алтайск. 15 – Белоруссия, Минская обл. 16 – Армения, окр. пос. Лермонтово. 17 – Южный Азербайджан, Талыш. Казахстан: 18 – Западно-Казахстанская обл., Теректинский р-н; 19 – Джунгарский Алатау; 20 – Заилийский Алатау. Туркменистан: 21 – хр. Копетдаг; 22 – хр. Кугитанг. Таджикистан: 23 – окр. пос. Ходжа Оби Гарм; 24 – окр. пос. Оби Гарм; 25 – Раитский р-н; 26 – Джиргитальский р-н. 27 – Непал, провинция Мустанг

В отношении внутривидовых группировок *S. uralensis* и *S. flavicollis* филогенетические реконструкции оказались более близкими. Однако по контрольному региону получено менее строгое распределение митотипов желтогорлых мышей на дендрограмме, где один из экземпляров южной формы (из Юго-Восточного Крыма) образовал отдельную короткую ветвь, исходящую непосредственно из анцестрального узла; по гену *cyt b* наблюдается очень раннее обособление гималайской формы малой лесной мыши, еще до дивергенции европейской и азиатской рас. Кроме того, очевидно заметное расхождение в соотношении значений генетических дистанций у разных видов и внутривидовых форм лесных мышей по трем изученным генам. Так, по гену *COI* наиболее удаленными являются европейская раса и памирская форма *S. uralensis*, а по двум другим генам – европейская раса и гималайская форма. Уровень различий северной и южной форм *S. flavicollis* по наиболее быстро эволюционирующему у лесных мышей гену *cyt b* ( $D=0,016$ ) едва превышает дистанцию по самому мало изменчивому контрольному региону ( $D=0,014$ ) и заметно ниже, чем по *COI* ( $D=0,022$ ).

Таким образом, полученные данные согласуются с высказанной ранее гипотезой об ускоренном темпе эволюции *COI* у памирской формы *S. uralensis* и замедленном – гена *cyt b* у желтогорлой мыши [1, 2, 4]. Возможно, снижение скорости изменений гена *cyt b* у *S. flavicollis* обусловлено произошедшими у его предковой формы специфическими заменами, «канализировавшими» дальнейшую эволюцию. Неравномерность темпов изменений того или иного гена в разных филетических линиях лесных мышей указывает на необходимость применения комплексного анализа нескольких генетических маркеров при определении масштабов дифференциации и филогенетических связей видов и внутривидовых форм, особенно близких.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Богданов А.С., Саидов А.С., Марочкина В.В. Генетическая изменчивость и дифференциация лесных мышей (*Sylvaemus*, Muridae) Юго-Западного Тянь-Шаня, Памиро-Алая и Гималаев: результаты исследования гетерохроматина и фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы // Наземные позвоночные животные аридных экосистем: Мат-лы Междунар. конф., посвященной памяти Н.А. Зарудного. Ташкент: CHINOR ENK, 2012. С. 64–74.
2. Богданов А.С., Стахеев В.В., Зыков А.Е. и др. Анализ генетической изменчивости и дифференциации лесных мышей рода *Sylvaemus* по результатам секвенирования фрагмента гена первой субъединицы цитохромоксидазы // Генетика. 2012б. Т. 48. № 2. С. 211–224.
3. Челомина Г.Н., Атопкин Д.М. Молекулярно-генетические свидетельства глубокого филогенетического разрыва между европейской и азиатской расами малой лесной мыши по данным изменчивости гена цитохрома *b* мтДНК // Молекулярная биология. 2010. Т. 44. № 5. С. 792–803.
4. Богданов А.С., Стахеев В.В., Зыков А.Е. и др. Внутривидовая дифференциация желтогорлой мыши *Sylvaemus flavicollis* в восточной части ареала: результаты исследования изменчивости фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы // Зоологические исследования регионов России и сопредельных территорий: Мат-лы III Междунар. науч. конф. Нижний Новгород: Нижегородский государственный педагогический университет им. К. Минина, 2014. С. 258–264.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 14–04–00785).

---

## ВИДОВАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЛОКАЛИЗАЦИИ ДНК ИЗ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА *Drosophila virilis* НА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ У БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ ГРУППЫ *D. virilis*

И.Э. Вассерлауф, К.Е. Усов, В.Н. Стегний

Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36

E-mail: I-2811-na@yandex.ru

Группа *virilis* – одна из наиболее многочисленных в подроде *Drosophila*, она является уникальным объектом для эволюционно-генетических, цитогенетических и популяционных

исследований. Основу эволюционных преобразований кариотипов в группе *virilis* составляют транслокации и инверсии хромосомных участков, которые привели к изменению структуры и морфологии хромосом. К тому же, определенную роль в эволюции кариотипов у видов группы сыграли Робертсоновские транслокации. Таким образом, эволюция кариотипов в группе *virilis* преимущественно происходила путем преобразования акроцентрических хромосом в метацентрические вследствие Робертсоновского слияния центромерных районов хромосом.

Близкородственные виды группы *D. virilis* филлады *montana* отличаются от видов филлады *virilis* по количеству гетерохроматина в хромосомах, а также наличием в кариотипе метацентрической хромосомы 2, возникшей в результате перичентрической инверсии при видообразовании. В связи с этим одной из цели настоящей работы являлось исследование реорганизации последовательностей ДНК прицентромерного гетерохроматина *D. virilis* на политенных хромосомах клеток слюнных желез близкородственных видов группы *D. virilis* (филлада *virilis* – *D. virilis*, *D. texana*, *D. lummei*, *D. americana* и филлада *montana* – *D. kanekoi*, *D. ezoana*, *D. borealis*, *D. littoralis*). Для этого была проведена микродиссекция хромоцентра политенных хромосом *D. virilis*.

На основе микродиссекционной ДНК-библиотеки («DvirIII») получен флуоресцентно меченый ДНК-зонд и проведена его *in situ* гибридизация (FISH) с политенными хромосомами клеток слюнных желез видов группы *D. virilis*. У всех изученных нами видов были выявлены общие черты по локализации зонда DvirIII в хромосомах слюнных желез. Так, у видов филлад *virilis* и *montana* была установлена локализация DvirIII в прицентромерных районах всех хромосом и в теломерном районе хромосомы 5, однако, проявлялась видовая специфика локализации DvirIII в прителомерном районе хромосомы 5. Также в политенных хромосомах слюнных желез DvirIII был локализован в некоторых интеркалярных районах. В то же время, в отличие от видов филлады *virilis*, у видов филлады *montana* DvirIII был локализован и в прителомерном районе метацентрической хромосомы 2. В политенных хромосомах слюнных желез проявлялась видовая специфичность по локализации DvirIII в прителомерном районе хромосомы 2.

Полученные нами результаты позволяют считать, что хромосомные перестройки играют важную роль в перераспределении последовательностей ДНК гетерохроматина в геноме, которые являются одним из механизмов видообразования, что, в целом, может повлиять и на изменение ориентации хромосом в трехмерном пространстве ядра. Ранее нами было показано, что эволюционные преобразования в пространственной организации ядер трофоцитов дрозофил происходили от видов с локальным хромоцентром к видам с диффузным хромоцентром и к видам у которых хромоцентр не выявляется, а хромосомы рассредоточены в пространстве ядра. По-видимому, такие эволюционные преобразования организации хромосом в ядре связаны с изменением общего количества гетерохроматина в хромосомах и с его перераспределением по плечам хромосом, которое происходило в ходе видообразования. В связи с этим нами был проведен сравнительный анализ пространственной организации районов прицентромерного гетерохроматина политенных хромосом трофоцитов у анцестральных видов группы *D. virilis* – *D. virilis* и *D. kanekoi*.

С помощью 3D FISH с политенными хромосомами трофоцитов *D. virilis* и *D. kanekoi* была выявлена видовая специфичность в распределении сигналов DvirIII в пространстве ядра. Так, у *D. virilis* сигнал был обнаружен в локальном хромоцентре на одном полюсе ядра, а на другом полюсе выявлялся сигнал, принадлежащий теломерному району хромосомы 5. В то же время у *D. kanekoi* сигналы DvirIII в пространстве ядра занимают две обособленные области, одна из которых принадлежит прицентромерному району хромосомы 2, а другая прицентромерным районам остальных хромосом.

Таким образом, нами было установлено, что у *D. virilis* на одном полюсе ядра располагается локальный хромоцентр, а на противоположном полюсе прителомерные районы хромосом, а у *D. kanekoi* хромосома 2 в пространстве ядра располагается обособленно от диффузного хромоцентра. Известно, что *D. kanekoi* отличается от *D. virilis* наличием в кариотипе субметацентрической хромосомы 2, возникшей в результате перичентрической инверсии при видообразовании. Вероятно,

именно поэтому наблюдается такое различие в трехмерной организации политенных хромосом в ядрах трофоцитов у *D. virilis* и *D. kanekei*, связанное с видоспецифичностью распределения гетерохроматина на хромосомах и его количеством в геноме.

*Работа выполнена в рамках базовой части государственного задания Министерства образования и науки РФ № 2142.*

---

## **ХАРАКТЕРИСТИКА СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *BRAF* У БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ ЮГА РОССИИ**

*Д.И. Водолажский, Е.Ю. Златник, Я.С. Енин, С.С. Кочуев, К.В. Двадненко*

*Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Министерства здравоохранения РФ, 3440037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63*

*E-mail: dvodolazhsky@gmail.com*

Меланома кожи человека является исключительно агрессивной опухолью с высоким уровнем летальности и высокой склонностью к рецидивам и метастазированию. Несмотря на то, что эта опухоль охватывает лишь 5 % случаев всех раков кожи, она является причиной приблизительно 75 % летальных случаев от рака кожи. Ее метастазы часто локализованы в лимфатических узлах, головном мозге, печени и других органах [1]. Основным приоритетом в развитии современной противоопухолевой химиотерапии является поиск таргетных препаратов, способных избирательно влиять на компоненты сигнальных путей, участвующих в механизмах канцерогенеза, таких как Вемурафениб. Нарушение в регуляции клеточного цикла, необходимое для развития меланомы, часто связано с изменениями в сигнальном пути **RAS/RAF/MEK/MAPK**, который является центральным регулятором клеточной пролиферации и выживания. Мутированные белки Ras или *Raf* постоянно стимулируют пролиферацию клеток, инвазию и метастазирование. Такие мутации наблюдались в >90 % клинических случаев меланомы [2]. Изучение частоты мутаций в гене *BRAF* на Юге России ранее не проводились, поэтому проведено исследование проявляемости соматической мутации V600E в гене *BRAF* опухолевых биоптатов пациентов с диагнозом меланома кожи Юга России для адекватного назначения таргетных препаратов (вемурафениб).

В исследовании участвовали 35 пациентов Юга России и Северного Кавказа: 15 мужчин, 20 женщин в возрасте от 35 до 77 лет с морфологически подтвержденным диагнозом меланома кожи. Для молекулярно-генетического исследования использовали 3 мкм срезы парафиновых блоков (FFPE), содержащие не менее 20 % опухолевых клеток. Экстракция ДНК включала стандартную процедуру депарафинирования в орто-ксилоле, лизис в 2 %-ном SDS-буфере в присутствии протеиназы К и дополнительную очистку от ингибиторов на колонках QIAamp® DNA FFPE TissueKit (QIAGEN, Germany). Для проведения RT-PCR концентрацию ДНК нормализовывали до величины 2 нг/мкл. При помощи набора реагентов «Real-Time-PCR-BRAF-V600E» («Биолинк», Россия) проводили определение 1 миссенс-мутации в 15 экзоне гена *BRAF*: V600E. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием непараметрического критерия  $\chi^2$  для порогового уровня  $p > 0,05$ .

Заболеваемость меланомой кожи без учета статуса наличия/отсутствия мутаций между пациентами мужского и женского пола была статистически достоверной для уровня  $p = 0,002$ , и в группе женщин встречалась в 2 раза чаще, чем у мужчин.

Как показали результаты нашего исследования, усредненный показатель частоты мутаций V600E (SNPT1799A) в 15 экзоне гена *BRAF* для мужчин и женщин в нашем исследовании составил 40 %, что сопоставимо с частотами проявлений мутаций V600E; по данным общемировой статистики, – 37–50 %. При этом процент мутаций у мужчин в нашем исследовании составил величину 26,7 %, а у женщин – 50 %. Таким образом, частота возникновения соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена *BRAF* у женщин почти в 2 раза превышала аналогичный показатель для мужчин. Можно сделать вывод, средний показатель частоты соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена *BRAF* является величиной, зависящей от гендерных пропорций данной конкретной выборки.

Был также проведен анализ возможных отличий частот соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена *BRAF* в разных возрастных группах пациентов: до 55 лет и старше 55 лет. В группе пациентов до 55 лет частота возникновения соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена *BRAF* у мужчин составила 33 %, в то время как у женщин аналогичный показатель был равен 55,6 %. В группе пациентов старше 55 лет частота возникновения соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена *BRAF* у мужчин составила 25 %, в то время как у женщин аналогичный показатель был равен 45,5 %.

Частота проявления соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена *BRAF* у пациентов старше 55 лет была меньше по сравнению с группой пациентов моложе 55 лет: у мужчин на 8 и у женщин – на 9,5 %. Данную закономерность вполне можно отнести к возрастным закономерностям вне зависимости от гендерных отличий.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Friedman R.J., Heilman, E.R.* The pathology of malignant melanoma // *Dermatol. Clin.* 2002, Vol. 20. P. 659–676.
2. *Smalley K.S.* Understanding melanoma signaling networks as the basis for molecular targeted therapy // *J. Invest. Dermatol.* 2010. Vol. 130. P. 28–37.

---

## ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПСИХОСОЦИАЛЬНОГО ЗДОРОВЬЯ МАЛОЙ ГРУППЫ

*А.А. Ёлов<sup>1</sup>, А.Б. Ильин<sup>2</sup>, М.К. Нурбеков<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2*

<sup>2</sup>*Московский государственный гуманитарный университет им. М.А. Шолохова, 109240, Российская Федерация, г. Москва, ул. Верхняя Радищевская, 16–18  
E-mail: anyol@mail.ru; ideal122@yandex.ru; mlkn47@mail.ru*

Спортивная команда в игровом виде спорта, особенно команда высокой квалификации, является типичным примером небольшого коллектива, деятельность которого связана с экстремально высокими физическими и эмоциональными нагрузками в сочетании с большой взаимозависимостью членов команды друг от друга. Примером такого коллектива является объект данного исследования – мужская молодежная команда мастеров спорта по водному поло, состоящая из 18 человек

В задачу исследования входила оценка комплекса психологических и социометрических показателей спортсменов наряду с генотипированием по одному из генов, считаю-



щегося в настоящее время психологически значимым – гену нейротрофического фактора мозга (BDNF), который во многом определяет устойчивость к стрессу, эмоциональность и способность в коммуникации. Для этого гена известна мутация Val66Met (замена валина на метионин в положении 66 белкового продукта этого гена). Для носителей более редкой Met-формы характерна пониженная устойчивость к стрессу и способность к коммуникации наряду с большей эмоциональностью и стремлением к поиску новизны. В задачу работы входила также разработка тест-системы, которая позволила бы определять эту мутацию в массовых анализах наиболее простым в исполнении способом – методом ПЦР в реальном времени. Для генотипирования применялся неинвазивный сбор материала – взятие мазка из полости рта.

Для членов обследуемой команды были определены психологические показатели личности по методикам Кэттелла, Шмишека и Гордона. Они были сопоставлены с данными социометрии, которые определяли статус спортсмена в команде и выражались в баллах. При этом более высокий балл имели те, которых другие члены команды при закрытом анкетировании чаще указывали в качестве желательных партнеров в разных игровых ситуациях, и наоборот. Оказалось, что для спортсменов с высоким статусом в группе наиболее выражены такие психологические показатели, как самоконтроль (степень корреляции 0,72) и эмоциональная устойчивость (0,68). В наибольшей отрицательной корреляции со статусом в группе оказались косвенная агрессия (-0,57), вербальная агрессия (-0,23) и обидчивость (-0,20). Меньшая, но также отрицательная корреляция обнаружена для раздражительности (-0,17), подозрительности (-0,15) и физической агрессии (-0,10). Генетический анализ по мутации Val66Met гена BDNF показал следующие результаты:

Результат социометрии																	
89	80	77	66	60	59	33	23	15	9	8	8	7	6	1	0	-5	-4
VV	VM	VV	VV	VV	VV	VM	VV	VM	VV	VV	VM	VM	VV	VV	MM	VM	MM
Генотип по Val66Met гена BDNF																	

Примечание: V, M – однобуквенные обозначения аминокислот валин и метионин, применяемые наряду с трехбуквенными Val и Met.

Весьма характерно, что среди шести спортсменов наиболее высокого статуса (59 и выше по социометрии) пять оказались гомозиготны по валину, в то время как двое гомозиготных по метионину оказались в тройке с наименьшим статусом. Это хорошо согласуется с известной связью этого гена с психологической устойчивостью, особенно при стрессовых нагрузках. Характерно и логично, что как раз самоконтроль и эмоциональная устойчивость оказались присущими для членов команды с высоким статусом, а обратная ситуация наблюдается при пониженной способности к коммуникации – склонности к интригам и сплетням, обидчивости и раздражительности. Полученные результаты указывают на то, что генотипирование по данной мутации имеет прогностическую значимость. Последняя, конечно, будет существенно выше при получении данных по нескольким психологически важным генам. Стоит также отметить, что спортивная команда является хорошим аналогом других коллективов, действующих автономно в сложных и экстремальных условиях, таких как экипажи морских и воздушных судов, спасатели и формирования МЧС либо силовых структур всех видов, а также работники производств, связанных с высокими нагрузками и потенциальной опасностью.

# ПРИМЕНЕНИЕ МЕТАГЕНОМНОГО АНАЛИЗА КАК МЕТОДОЛОГИИ СОЗДАНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ ДИАГНОСТИКУМОВ РНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ

*А.Е. Калашников, А.И. Богомолов, И.В. Виноградова, Е.А. Гладырь*

*Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. академика Л.К. Эрнста, 142132, Российская Федерация, Московская область, Подольский район, пос. Дубровицы  
E-mail: vijinfo@yandex.ru; aekalashnikov@yandex.ru; art-bogwk@yandex.ru*

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (BLV) относится к семейству *Retroviridae*, подсемейству *Oncoviridae* типа С. BLV вызывает высоко контагиозную инфекцию, которая протекает в скрытой форме и поражает ряд ключевых видов сельскохозяйственных животных. Для эффективной борьбы с инфекцией необходимо разрабатывать современные методы диагностики. Диагностика классическими методами: РИД, ИФА – не может обеспечить достаточной диагностической и аналитической чувствительности. Нами были поставлены задачи анализа кинетики мутаций и, на основании полученных данных, – разработки ПЦР тест-системы нового поколения.

Праймеры были подобраны по статически консервативным областям на основании данных метагеномного анализа при сравнении максимального количества известных изолятов BLV его функциональных фрагментов (>1009). Проведен анализ с учетом областей высокой кинетики мутаций наиболее географически и структурно подразделенных друг от друга изолятов, что позволит в дальнейшем предсказывать структуру генома новых неизвестных изолятов BLV, привнесенных на территорию России при импорте животных.

Аmplификацию осуществляли по четырем мишеням про-вирусной ДНК BLV: в области гена поверхностных эпитопов *env* и транспортного гликопротеида *gag*, а также в области референсных генов *ActB* и *gapdh* крупного рогатого скота, подобранных для возможности амплификации в количественном режиме и дальнейшей калибровки в необходимых для расчета единицах. Также были подобраны флуоресцентные зонды, рассчитанные по системе Taqman (Applied Biosystems, США). Температура отжига, длина продукта и время элонгации подобраны таким образом, чтобы проводить амплификацию в единых условиях. Тест эффективно выявлял образцы по референтному гену с концентрацией гДНК от 5 до 120 мкг/мкл и разбавлении до 2048 раз (конечная концентрация 0,035 мкг/мкл). Всего было проанализировано 345 животных из хозяйств Московской области, из них выявлено 29 % положительных животных. Тест эффективнее разработанного ранее «*nested*» ПЦР, который выявил 20 % положительных животных. Анализ наличия вирусной РНК позволяет выявлять больше инфицированных животных при сравнении с анализом провирусной ДНК с большей достоверностью (100 % против 84,6 %). Среди преимуществ метода следует отметить его универсальность и высокую эффективность на практике при тестировании на образцах животных хозяйств Московской области.

---

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ПОДВИДОВ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА (*Lymantria dispar*) НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

*И.О. Камаев*

*Всероссийский институт карантина растений, 140150, Российская Федерация, Московская область, Раменский район, пос. Быково, ул. Пограничная, 32  
E-mail: ilyakamayev@yandex.ru*

Непарный шелкопряд (*Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758)) – один из важнейших вредителей леса с ареалом, охватывающим территорию Евразии и северо-востока Северной Америки. Дан-

ный вид характеризуется высоким уровнем экологической пластичности и полиморфизма [1], что затрудняет выделение его внутривидовых группировок на основе морфологических признаков [2, 3]. В настоящее время на территории Евразии выделяют два подвида непарного шелкопряда [4], достоверно различающихся друг от друга на генетическом уровне [5]. Известны отрывочные молекулярно-генетические данные по непарному шелкопряду для территории России [6, 7]. Настоящее исследование посвящено расширению представлений о распространении подвидов непарного шелкопряда в России на основе молекулярно-генетических исследований.

Материал был собран на территории Республики Удмуртия, Приморского и Забайкальского края, Амурской, Калининградской, Московской, Пензенской, Пермской, Ростовской и Сахалинской областей. Всего изучено 58 особей непарного шелкопряда. Генотипирование проводили по нуклеотидным заменам фрагмента митохондриального гена цитохром-с-оксидазы I методом секвенирования.

В результате исследований выявлено, что на территории России встречается два гаплотипа непарного шелкопряда, соответствующие европейскому (*L.d. dispar*) и азиатскому (*L.d. asiatica* Vnukovskij, 1926) подвидам. Европейский подвид выявлен на территории Республики Удмуртия, Калининградской, Московской, Пензенской, Пермской и Ростовской областей, азиатский – на территории Приморского и Забайкальского края, Амурской и Сахалинской области.

Автор выражает благодарность коллегам ФГБУ «ВНИИКР» за помощь в сборе материала.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Morgan T.H. Experimental Zoology. London. 1907. 454 p.
2. Goldschmidt R. The material basis of evolution. New Haven CT: Yale Univ. Press, 1940. 436 p.
3. Кожанчиков И.В. Волнянки (Orgyidae) // Фауна СССР. Насекомые чешуекрылые. 1950. Т. XII. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 583 с.
4. Pogue M.G., Schaefer P.W. A review of selected species of *Lymantria* Hübner [1819] including three new species (Lepidoptera: Noctuidae: Lymantriinae) from subtropical and temperate regions of Asia, some potentially invasive to North America. FHTET, 2007. 221 p.
5. Waard de J.R., Mitchell A., Keena M.A., Gopurenko D., Boykin L.M., Armstrong K.F., Pogue M.G., Lima J., Floyd R., Hanner R.H., Humble L.M. Towards a global barcode library for *Lymantria* (Lepidoptera: Lymantriinae) tussock moths of biosecurity concern // PLoS ONE. 2010. Vol. 5. № 12. P. 1–10.
6. Bogdanowicz S.M., Schaefer P.W., Harrison R.G. Mitochondrial DNA variation among worldwide populations of gypsy moths, *Lymantria dispar* // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2000. Vol. 15. P. 487–495.
7. Keena M.A., Cote M.-J., Grinberg P.S., Wallner W.E. World distribution of female flight and genetic variation in *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) // Environmental Entomology. 2008. Vol. 37. P. 636–649.

---

## ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МАРКЕР МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ОВЕЦ

**Ю.А. Колосов, Н.Ф. Бакоев, М.А. Леонова,  
Н.В. Широкова, А.Ю. Колосов, С.Ю. Бакоев**

Донской государственный аграрный университет, лаборатория молекулярной диагностики и биотехнологии сельскохозяйственных животных, Российская Федерация, 346493, Ростовская обл., Октябрьский (с) р-н, пос. Персиановский, ул. Кривошлыкова, 2  
E-mail: Nekruz82@mail.ru

В современных экономических и внешнеполитических условиях существенно возросла актуальность повышения продуктивности сельскохозяйственных животных отечественных пород [1]. Овцеводство по разнообразию производимой продукции не имеет себе равных среди отраслей продуктивного животноводства и для Ростовской области является приоритетным направлением развития сельского хозяйства [2, 3]. Одним из экономически значимых направлений селекционной работы по совершенствованию мериносовых пород является улучшение откормочных и мяс-

ных качеств [3]. Одним из подходов для решения этой задачи является разработка и освоение методов маркерной селекции (Marker Assisted Selection – MAS). В качестве ДНК-маркеров рассматриваются гены, аллельные варианты которых связаны с проявлением хозяйственно ценных признаков животных [4, 5].

Целью наших исследований стало изучение полиморфизма гена кальпастина (*CAST*) и его влияния на ростовые качества овец.

Исследования проводили на овцах сальской породы ( $n=108$ ), разводимых в Ростовской области. Анализ проводили методом ПЦР с последующим гидролизом образующихся амплифицированных фрагментов с помощью рестриктазы *MspI*.

В результате исследований у овец сальской породы было установлено только два генотипа MM и MN. Наибольшая частота принадлежала аллелю M и генотипу MM (0,89 и 0,78, соответственно). Частота гетерозиготного генотипа MN составила 0,22.

Проведение дальнейших исследований по изучению связи аллельных вариантов гена *CAST* с ростовыми признаками показало, что наличие аллельного варианта N (гетерозиготный генотип MN) у баранчиков сальской породы связано с большими среднесуточными приростами – на 16,3 г ( $p<,01$ ) и большей массой – на 1,04 кг ( $p<,05$ ) при отъеме в 2 месяца.

Таким образом, впервые получены результаты изучения полиморфизма гена *CAST/MspI* у овец, разводимых в Ростовской области, и выявлены достоверные ассоциации между генотипами гена *CAST* и ростовыми признаками овец сальской породы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Колосов Ю.А. Использование генофонда мериносовых овец отечественной и импортной селекции для совершенствования местных мериносов // Овцы, козы, шерстное дело. 2012. № 4. С. 13–16.
2. Колосов Ю.А., Широкова Н.В. Мясные качества чистопородных и помесных баранчиков разного происхождения // Овцы, козы, шерстное дело. 2012. № 3. С. 44–46.
3. Kolosov Yu., Getmantseva L., Shirokova N. Sheep Breeding Resources in Rostov Region // World Applied Sciences Journal. 2013. Vol. 23(10). P. 1322–1324.
4. Сулимова Г.Е., Федюнин А.А., Климов Е.А., Столбовский Ю.А. Оценка генетического потенциала отечественного скота по признакам высокого качества мяса на основе ДНК-маркерных систем // Проблемы биологии продуктивных животных. 2011. № 1. С. 62–64.
5. Georgieva S., Hristova D., Dimitrova I., Stancheva N., Bozhilova-Sakov M. Molecular analysis of ovine calpastatin (*CAST*) and myostatin (*MSTN*) genes in Synthetic Population Bulgarian Milk sheep using PCR-RFLP // J. BioSci. Biotechnol. 2015. № 4(1). P. 95–99.

---

## ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПРИЗНАКИ РИСА В УСЛОВИЯХ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

**П.И. Костылев<sup>1</sup>, Е.В. Краснова<sup>1</sup>, А.А. Редькин<sup>1</sup>, А.В. Усатов<sup>2</sup>,  
М.С. Макаренко<sup>2</sup>, К.В. Азарин<sup>2</sup>, Е.Б. Кудашкина<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко, 347740, Российская Федерация, Ростовская обл., г. Зерноград, Научный городок, 3

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт биологии Южного федерального университета, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>3</sup>АЧИИ ДЗНИИСХ, 347740, Российская Федерация, Ростовская обл., г. Зерноград, ул. Ленина, 19  
E-mail: p-kostylev@mail.ru; mctakarenko@yandex.ru

Засоление почвы является существенным препятствием для расширения производства риса в мире. Одна пятая часть орошаемых земель в мире испытывает неблагоприятное воздействие высокой солености почвы [1]. В мире примерно 20 % орошаемых площадей (около 45 миллионов

га) в различной степени страдают от проблем засоления [2]. В Российской Федерации рис выращивается на юге России на площади около 200 тыс. га. Около 80 тыс. га рисовых полей в той или иной степени подвержены засолению [3]. В Ростовской области под рисом используется 14–15 тыс. га, часть из которых поливается солоноватой водой из озера Маныч.

Снижение урожайности на засоленных почвах может быть преодолено путем улучшения толерантности риса к этому фактору. Поэтому необходимо создавать и внедрять в сельскохозяйственное производство новые устойчивые сорта.

Толерантность к засолению на разных стадиях роста обеспечивают несколько независимых генов [4]. Основным локусом количественного признака устойчивости является **Saltol**, расположенный на хромосоме 1 [5]. Его передача в коммерческие сорта риса возможна с помощью гибридизации и использования молекулярных маркеров, которые позволяют контролировать перенос генов потомству в каждом поколении, что увеличивает скорость и надежность процесса отбора.

Целью работы являлась оценка с помощью ДНК-маркеров и ПЦР-анализа гибридных форм риса  $F_2$ , полученных во ВНИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко от скрещивания солеустойчивых доноров IR 52713, IR 74099 и NSIC Rc 106 из коллекции Института сельскохозяйственной генетики (Ханой, Вьетнам) со скороспелым краснодарским сортом Новатор.

Гибридные растения трех комбинаций скрещивания выращивали на чеках ФГУП «Пролетарское» Ростовской области. Из листьев риса, отобранных в сентябре 2014 г. на селекционных делянках, выделяли в лабораторных условиях Института биологии ЮФУ геномную ДНК с помощью коммерческого набора «Фито-Сорб» (Синтол, Россия), согласно инструкции производителя. При проведении SSR-анализа использовали 2 пары праймеров, ассоциированных с локусом солеустойчивости: RM493 и RM7075, которые были отобраны нами по литературным данным [6]. Амплификацию проводили в термоциклере Bio-rad C1000 (США). ПЦР продукты разделяли с помощью электрофореза в 2,5 %-ном агарозном геле. Анализируемые растения  $F_2$  были подвергнуты биометрическому анализу. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Excel и Statistica 6.

Гибриды второго поколения существенно варьировали по количественным признакам: вегетационному периоду (от скороспелых до нецветущих), высоте растений (75–122 см), длине метелки (14–25 см), числу выполненных зерен (80–206 шт.), числу колосков (99–300 шт.), плотности метелки (4,4–16,6 шт./см), массе 1000 зерен (26,3–34,9 г), массе зерна с метелки (2,1–5,5 г) и др.

Для анализа взяли лучшие растения с хорошо вызревшим зерном. Расщепление по генам Saltol не укладывалось в рамки менделевского, так как выборка была нерепрезентативной вследствие отбора. В таблице 1 представлены соотношения расщепления у трех гибридов.

Таблица 1

#### Расщепление по генам Saltol

Гибрид	Saltol / Saltol	Saltol / saltol	Saltol / Saltol
NSIC Rc 106 x Новатор	21	12	11
IR 52713 x Новатор	6	7	4
IR 74099 x Новатор	12	3	1
Всего	39	22	16

Преобладали растения с рецессивными аллелями гена (39), существенно меньше было гетерозигот (22), а солеустойчивых гомозигот – меньше всех (16). Это связано со сцеплением генов Saltol с неблагоприятными для растений в наших условиях генами.

Средние величины количественных признаков в этих трех группах несколько различались по комбинациям (табл. 2).

Средние величины признаков растений с различным аллельным состоянием генов *Saltol*

Число генов <i>Saltol</i>	Высота растения, см	Длина метелки, см	Число выполненных зерен, шт.	Число пустых колосков, шт.	Всего колосков, шт.	Плотность метелки, шт./см	Масса тысячи зерен, г	Масса зерна с метелки, г
<i>NSIC Rc 106 x Новатор</i>								
0*	94,7	18,7	113,6	83,4	197,0	10,7	29,2	3,3
1	89,9	18,3	110,3	70,6	180,8	9,9	30,1	3,3
2	96,9	18,1	122,5	51,3	173,7	9,8	29,6	3,6
<i>IR 52713 x Новатор</i>								
0	95,6	18,2	90,5	146,8	237,3	13,0	24,7	2,2
1	100,6	17,5	100,4	137,6	238,0	13,8	25,6	2,5
2	98,1	17,8	95,5	142,2	237,7	13,4	25,1	2,4
<i>IR 74099 x Новатор</i>								
0	89,8	17,8	94,7	89,6	184,3	10,5	26,5	2,4
1	81,0	17,2	77,7	98,3	176,0	10,4	23,6	1,8
2	97,0	20,5	271,0	89,0	360,0	17,6	24,4	6,6

\*Примечание: 0 – гомозигота по рецессивному аллелю, 1 – гетерозигота, 2 – гомозигота по доминантному аллелю гена *Saltol*.

В гибридных комбинациях *NSIC Rc 106 x Новатор* и *IR 52713 x Новатор* у солеустойчивых растений высота была на 2–2,5 см выше, чем у неустойчивых, длина метелки на 0,4–0,6 см короче, число выполненных зерен на 5–9 шт. больше, масса 1000 зерен на 0,4 г выше, масса зерна с метелки на 0,2–0,3 г больше. В комбинации *IR 74099 x Новатор* все признаки, кроме массы 1000 зерен, у солеустойчивого образца были существенно выше, но они недостоверны, так как он был в единственном числе.

Таким образом, анализ показал, что растения, имеющие в гомозиготном состоянии доминантный ген солеустойчивости *Saltol*, имеют лучшее развитие количественных признаков, что указывает на их большую адаптивность к условиям Ростовской области.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Negrao S., Courtois B., Ahmadi N., Abreu I., Saibo N., Oliveira M.M.* Recent updates on salinity stress in rice: from physiological to molecular responses // *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2011. Vol. 30. № 4. P. 329–377.
2. Food and Agriculture Organization, “Report of salt affected agriculture,” 2010, URL: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/>.
3. *Ладатко Н.А.* Морфофизиологические особенности сортов риса, обуславливающие их устойчивость к засолению почвы, в связи с разработкой методов оценки селекционных образцов на солеустойчивость: Дис... канд. биол. наук. Краснодар, 2006. 190 с.
4. *Linh, L.H., Linh T.H., Xuan T.D., Ham L.H., Ismail A.M., Tran Dang Khanh T.D.* Molecular Breeding to Improve Salt Tolerance of Rice (*Oryza sativa* L.) in the Red River Delta of Vietnam // *International Journal of Plant Genomics*, Volume 2012. Article ID 949038, 9 p.
5. *Takehisa H., Shimodate T., Fukuta Y. et al.* Identification of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy field flooded with salt water // *Field Crops Research*, 2004. Vol. 89. № 1. P. 85–95.
6. *Sabouri H., Rezaei A.M., Moumeni A. et al.* QTLs mapping of physiological traits related to salt tolerance in young rice seedlings // *Biol. Plant*. 2009. Vol. 53. P. 657–662.

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald.

Ю.Ю. Кулакова, В.Г. Кулаков

Всероссийский центр карантина растений, 140150, Российская Федерация, Московская область, Раменский р-н, пос. Быково, ул. Пограничная, 32  
E-mail: thymus73@mail.ru,

Целью исследования был поиск видоспецифичных молекулярных маркеров для идентификации карантинного вида ценхруса длинноколочкового *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald. от злаков рода. Были изучены 20 образцов, относящихся к 7 видам. Карпологический материал получен из различных регионов России (*C. longispinus*), Аргентины (*C. brownii*, *C. spinifex*, *C. ciliaris*, *C. myosuroides*), Таиланда (*C. echinatus*) и Египта (*C. biflorus*). Выделение ДНК проводили из проростков и зеленых листьев растений методом хлороформной экстракции. Испытано 16 пар универсальных праймеров, предложенных для поиска переменных участков в пластоме высших растений. ПЦР продукты были получены по 12 локусам.

Анализ данных секвенирования показал наличие нуклеотидного полиморфизма, отличающего карантинный вид *Cenchrus longispinus* от некарантинных только по одному межгенному спейсеру *grl32-trnL* с заменой G/A по 4 позициям данного региона. Данный молекулярный маркер является одним из наиболее потенциально информативных среди некодирующих локусов пластома и используется для поиска нуклеотидного полиморфизма у близкородственных видов разных таксономических групп растений и, как показало наше исследование, может быть использован для дифференциации карантинного вида *Cenchrus* от остальных.

Авторы благодарят коллег за помощь в сборе и обработке материала.

---

## ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ ЛЕЙКЕМИЯ-ИНГУБИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (LIF) И ЭСТРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА (ESR) НА ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА СВИНЕЙ

М.А. Леонова<sup>1,2</sup>, А.В. Усатов<sup>1</sup>, А.В. Радюк<sup>2</sup>, А.Ю. Колосов<sup>2</sup>, Л.В. Гетманцева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Донской государственной аграрный университет, Российская Федерация, 346493, Ростовская обл., Октябрьский (с) р-н, пос. Персиановский, ул. Кривошлыкова, 2

E-mail: m.leonova@mail.ru

Стремительное развитие молекулярной генетики и ДНК-технологий позволяет проводить анализ геномов организмов на уровне нуклеотидов [1, 2]. После завершения международного проекта по расшифровке генома человека были разработаны и внедрены новые методы не только в медицину, но и в другие отрасли науки, в частности, в сельскохозяйственные [3]. Расшифровка геномов сельскохозяйственных животных, создание генных карт, изучение структуры и функции отдельных генов и локусов стимулировало развитие маркер вспомогательной селекции (MAS, англ.) – селекции на основе ДНК-маркеров (определенных участков ДНК) [4, 5].

Молекулярно-генетические методы анализа, основанные на полиморфной природе ДНК, позволяют оперативно определять гены, контролирующие формирование различных признаков, в том числе и продуктивность животных. В связи с этим целью исследования стало изучение влияния генов лейкоингибирующего фактора (*LIF*) и эстрогенового рецептора (*ESR*) на продуктивные качества свиней. Исследования выполняли на свиньях породы ландрас ( $n=326$ ) и крупной белой породы ( $n=140$ ). Анализ проводили методом ПЦР-ПДРФ. Амплифицированные фрагменты генов *LIF* и *ESR* расщепляли эндонуклеазами рестрикции *Dra*III и *Pvu*I, соответственно.

В результате изучения распределения частот аллелей и генотипов гена *LIF* у свиней породы ландрас было установлено три генотипа с частотами AA – 25,0; AB – 37,5 и BB – 37,5 %. Частота аллеля А составила 0,44, В – 0,56. У свиноматок крупной белой породы наибольшая частота принадлежала аллелю А (0,57) и гетерозиготному генотипу AB (52,7 %). Наименьшая частота была установлена у животных с генотипом BB (15,8 %). По гену *ESR* свиньи породы ландрас оказались не полиморфны, был идентифицирован только гомозиготный генотип AA. У свиней крупной белой породы обнаружены два аллеля А и В, частоты которых составили 0,47 и 0,53, соответственно. В исследуемой выборке определены три генотипа AA, AB и BB. Наибольшую частоту имел генотип AB (47,1 %), наименьшую – генотип AA (23,5 %).

Анализ влияния полиморфизма гена *LIF* на воспроизводительные качества показал, что свиноматки породы ландрас с генотипом AA/*LIF*, относительно аналогов с генотипом BB/*LIF*, имели лучшие показатели по количеству поросят при рождении и многоплодию на 11,0 % (1,4 гол.,  $p \leq 0,05$ ) и 11,5 % (1,3 гол.,  $p \leq 0,05$ ), соответственно. Свиноматки крупной белой породы с генотипом AA/*LIF* также превосходили аналогов с генотипом BB/*LIF* по количеству поросят при рождении на 10,6 % (1,2 гол.,  $p \leq 0,01$ ) и многоплодию на 9,9 % (1,05 гол.,  $p \leq 0,05$ ).

Анализ воспроизводительных качеств показал, что свиноматки крупной белой породы гомозиготного генотипа BB/*ESR* имели большее количество поросят при рождении и многоплодие на 8,9 % (1,05 гол.,  $p \leq 0,05$ ) и 6,3 % (0,7 гол.,  $p \leq 0,05$ ), соответственно, относительно свиноматок генотипа AA.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии достоверных корреляций между полиморфизмом генов *LIF* и *ESR* и продуктивными качествами свиней породы ландрас и крупной белой.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гетманцева Л.В., Леонова М.А., Третьякова О.Л., Усатов А.В. Взаимосвязь полиморфизма гена *LIF/Dra*III с продуктивными качествами свиней // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2014. № 3. С. 36–39.
2. Леонова М.А., Гетманцева Л.В., Колосов А.Ю. Распределение частот аллелей и генотипов гена лейкоингибирующего фактора у свиней различных пород // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 2. С. 155.
3. Mihailov N.V., Getmantseva L.V. Association polymorphism in the *POU1F1/Msp*I, *PRLR/Alu*I и *ESR1/Pvu*II gene with reproductive traits in Pigs // European Applied Sciences. 2013. № 2. P.7–10.
4. Spötter A., Drögemüller C., Hamann H. and Distl O. Evidence of a new leukemia inhibitory factor-associated genetic marker for litter size in a synthetic pig line // J. Anim. Sci. 2005. Vol. 83. P. 2264–2270.
5. Stewart C.L., Kaspar P., Brunet L. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukemia inhibitory factor // J.Nature 1992.Vol. 359. P. 76–79.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.



# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ R2 РЕТРОПОЗОНОВ ТРЕХ ЭВОЛЮЦИОННО УДАЛЕННЫХ ВИДОВ ТАРАКАНОВ

*В.А. Мавропуло, Д.В. Муха*

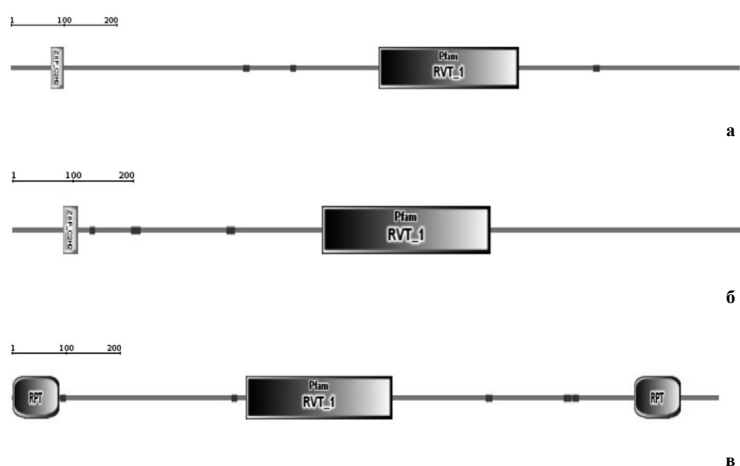
*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Губкина, 3*

*E-mail: mavropulov@gmail.com; dmitryVmukha@gmail.com*

Значительная часть генетического материала эукариотических организмов, геномы которых описаны к настоящему времени, представлена мобильными элементами (МЭ) различных типов. Несмотря на интенсивное изучение этой части генома в последние десятилетия, биологическая роль, закономерности эволюционной изменчивости, и молекулярные механизмы, обеспечивающие поддержание в геноме МЭ, остаются во многом непонятыми.

История молекулярно-генетического исследования МЭ насчитывает более 30 лет. Без увеличения можно сказать, что существенная доля информации об особенностях биологии МЭ эукариот была получена в исследованиях на дрозофиле. Молекулярно-генетическая организация МЭ различных эукариот во многом сходна. В то же время каждый вид обладает рядом структурных и функциональных особенностей, характерных для данных генетических элементов генома. С нашей точки зрения, для комплексного понимания всего разнообразия генетических процессов, лежащих в основе функциональной активности и эволюционной изменчивости живых организмов, принципиально важным является молекулярно-генетическое исследование новых, ранее не исследованных видов, то есть традиционно не являющихся “модельными”.

С использованием универсальных праймеров, фланкирующих место интеграции R2 ретротранспозонов в генах 28S рибосомной РНК, впервые амплифицированы, клонированы и секвенированы R2 ретротранспозоны трех эволюционно удаленных видов тараканов: *Periplaneta brunnea*, *Leucophaea maderae*, *Temnopteryx coulouiana*. Размер исследованных МЭ составляет: *Periplaneta brunnea* – 4544 нп, *Leucophaea maderae* – 4570 нп, *Temnopteryx coulouiana* – 3707 нп. Показано, что все описанные МЭ имеют одну открытую рамку считывания (ORF). На рисунке представлена схема доменной организации ORF описанных МЭ, предсказанная программой SMART ([http://smart.embl-heidelberg.de/smart/set\\_mode.cgi?NORMAL=1](http://smart.embl-heidelberg.de/smart/set_mode.cgi?NORMAL=1)).



*Рис. Доменная организация белков, соответствующих ORF R2 ретротранспозонов: а – Periplaneta brunnea; б – Leucophaea maderae, в) Temnopteryx coulouiana, выявляемая программой SMART. Вертикальными прямоугольниками выделены домены цинковых пальцев, продольными прямоугольниками – домены обратной транскриптазы, овалами – повторы аминокислотных последовательностей*

Показано, что ORF всех описанных нами R2 ретротранспозонов содержат домен обратной транскриптазы. Кроме того, ORF R2 ретротранспозонов *Periplaneta brunnea* и *Leucophaea maderae* содержат по одному домену цинковых пальцев, в то время как ORF R2 ретротранспозона *Temnopteryx coultoniana* содержит дубликацию коротких аминокислотных последовательностей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Динамика генофондов».

## СТАБИЛЬНОСТЬ МОЛЕКУЛ ДНК ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ ЛИСТЬЕВ ПОДСОЛНЕЧНИКА В УСЛОВИЯХ ГЕРБАРИЯ

*М.С. Макаренко, В.А. Хачумов, А.В. Усатов, И.В. Корниенко*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: mcmakarenko@yandex.ru*

Гербарные образцы являются уникальным источником для изучения биоразнообразия растений. Современные методы молекулярной биологии позволяют дополнять традиционные исследования морфологических признаков гербарных образцов информацией о структурной организации их геномов. Однако ДНК, выделяемая из гербарных образцов, является в значительной степени фрагментированной, что негативно влияет на результаты молекулярно-генетических исследований. В связи с этим мы провели оценку уровня деградации молекул ядерной и хлоропластной ДНК в листьях многолетнего подсолнечника *Helianthus rigidus*, хранившегося в течение 10 лет в условиях гербария Кубанской опытной станции ВИР. В качестве объектов сравнения использовали те же коллекционные образцы или из свежих листьев растений, или хранившиеся в течение одного года при температуре  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

ДНК выделяли из 50 мкг листьев с помощью набора «ФитоСорб» (Синтол, Россия). Содержание ДНК определяли методом ПЦР-РВ с использованием прибора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Для этого использовали праймеры, фланкирующие SSR локусы: ORS509 (ядерная ДНК) и NTCP9 (хлДНК). Эффективность ПЦР для каждой пары праймеров составила 80 %, а размер ампликонов не превышал 300 п.о. Содержание ДНК рассчитывали на абсолютно сухой вес листовой ткани. Результаты количественной оценки ДНК представлены в таблице.

*Таблица*

**Содержание ядерной и хлоропластной ДНК подсолнечника**

Условия хранения растительного материала	Контроль, свежий материал	1 год при $t^0 = -80\text{ }^{\circ}\text{C}$		10 лет при комнатной $t^0$ в условиях гербария	
	абс. знач. (Ct)	абс. знач. (Ct)	% отн. контр.	абс. знач. (Ct)	% отн. контр.
Ядерная ДНК	23,5±0,5	23,7±0,6	91 %	28,8±0,9	8,3 %
Хлоропластная ДНК	18,3±1,4	18,7±1,9	83 %	25,6±2,6	3,2 %

**Примечание:** Ct – пороговый цикл, отражающий количество копий ДНК в образцах.

Видно, что содержание ядерной ДНК в гербарном материале уменьшилось в 12 раз, а хлоропластной ДНК в 30 раз. Эти изменения свидетельствуют о значительной деградации молекул как ядерной, так и, особенно, хлоропластной ДНК. Уровень деградации хлоропластной ДНК был в 2,5 раза выше, чем ядерной ДНК. Достоверных различий в содержании ДНК в листьях контрольных образцов и листьях, хранившихся 1 год при  $T = -80\text{ }^{\circ}\text{C}$  не установлены. Несмотря на значительное снижение числа молекул ДНК, в целом в гербарных образцах сохраняется достаточное количество ДНК для анализа коротких последовательностей (до 300 п.о.). Однако для многих современных молекулярных методов, к примеру полногеномного секвенирования, как правило, требуется получение ампликонов большего размера. В дальнейшем мы планируем оценить уровень деградации более крупных фрагментов ДНК.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.*

---

## **ЛОКАЛИЗАЦИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ МУТАЦИЙ В ХЛОРОПЛАСТНОМ ГЕНОМЕ ПЕСТРОЛИСТНЫХ ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА**

***Н.В. Маркин<sup>1</sup>, М.Д. Логачева<sup>2</sup>, Н.С. Колоколова<sup>1</sup>, А.В. Усатов<sup>1</sup>***

*<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, институт Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119992, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40*

*E-mail: nmarkin@mail.ru*

В Южном федеральном университете создана уникальная коллекция хлорофильных мутантов подсолнечника. Все мутанты были индуцированы с помощью N-нитрозо-N-метилмочевины (НММ) на генетической основе инбредной зеленой линии № 3629. Мутантные линии различаются между собой по содержанию пигментов и др. морфофизиологическим показателям. Ультраструктурный анализ клеток и клеточных органелл листьев мутантов продемонстрировал изменения тонкой структуры, приводящих к хлорофильным дефектам, и, как следствие, снижению фотосинтетической активности. Гибридологическим анализом была доказана внеядерная природа наследования мутантных признаков. Однако для корректного подтверждения внеядерной природы хлорофильных дефектов необходимо было локализовать мутации в хлоропластном геноме. С этой целью у двух пестролистных мутантов *var-10* и *var-13* с белой (содержание хлорофиллов *a* и *b* 0,25 мг/г сухого веса) и желтой (содержание хлорофиллов *a* и *b* 0,52 мг/г сухого веса) мутантными тканями, соответственно, была секвенирована хлДНК. В качестве контроля использовали растения исходной линии № 3629 (содержание хлорофиллов *a* и *b* 8,53 мг/г сухого веса).

Полногеномное секвенирование хлДНК проводили на секвенаторе HiSeq 2000 («Illumina», USA) с длиной чтения 100+100. Полученные последовательности картировали на референсный

хлоропластный геном подсолнечника линии НА383 [номер записи в GenBank NC\_007977]. Результаты анализировали с помощью программы CLC Genomics Workbench v. 6.0.4.

Сравнительный анализ показал, что хлДНК исходной линии № 3629 отличается от референсного хлоропластного генома линии НА383 несколькими полиморфными сайтами: 7 полиморфизмов представляли собой микросателлитные области и 4 однонуклеотидных полиморфизма (SNP), один из которых характеризовался несинонимичной заменой Т на С в гене 5-ой субъединицы НАДФ-дегидрогеназы (*ndhF* (Leu475Ser)). Последний полиморфизм был локализован и в хлДНК мутантных тканей пестролистных форм *var-10* и *var-13*. Кроме того, структура хлДНК мутанта *var-10* отличается от хлДНК контроля (№ 3629) двумя микросателлитными локусами (C)<sub>11</sub> и (T)<sub>15</sub> и семью SNP. Два SNP представлены несинонимичными заменами: G на A (*rpoA* (Thr203Ile)) и C на T (*rpoC2* (Leu768Phe)), локализованы в генах, кодирующих  $\alpha$  и  $\beta$  – субъединицы РНК-полимеразы, соответственно. Остальные пять SNP, по-видимому, не приводят к изменениям трансляционных продуктов, так как являются либо синонимичными заменами в генах *psaA* и *ndhG*, либо локализованы в межгенных регионах хлоропластного генома (*ycf6-psbM*, *rpl16-rps3* и *rpl32-ndhF*).

В структуре хлДНК мутанта *var-13* были определены две полиморфные микросателлитные области (C)<sub>11</sub> и (T)<sub>15</sub>, такие же, как и у мутанта *var-10*, а также три уникальных SNP. Один из них находится в некодирующем участке хлоропластного генома (межгенный регион *trnL-UAG-rpl32*), а два несинонимичных SNP – в гене *ycf3*, контролирующим фактор сборки фотосистемы I.

Таким образом, локализация мутаций в хлДНК внеядерных хлорофильных мутантов позволяет нам предположить, что фенотип пестролистной формы *var-10* определяется изменениями в структуре генов *rpoA* и *rpoC2*, кодирующих  $\alpha$  и  $\beta$  субъединицы РНК-полимеразы, а фенотип пестролистной формы *var-13* – мутациями в гене *ycf3*, контролирующим фактор сборки фотосистемы I.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К*

---

## **ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА КАЗАХСТАНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ МОЛОЧНОГО НАПРАВЛЕНИЯ**

*А.С. Мусаева, Г.М. Абылкасымова, М.Д. Тулекей*

*Институт общей генетики и цитологии КН МОН Республики Казахстан, 050060, Республика Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 93  
E-mail: aimus\_@mail.ru*

Скотоводство в Республике Казахстан является одной из основных отраслей аграрного сектора. Селекционные программы для крупного рогатого скота (КРС) имеют наивысший приоритет в стране. Для увеличения продукции отечественного животноводства и интеграции его в мировой рынок необходимо использование и внедрение современных молекулярно-генетических методов в селекционные мероприятия, что будет способствовать ускоренному созданию новых

высокопродуктивных, высокоадаптивных, неприхотливых пород, типов и линий сельскохозяйственных животных.

Наряду с удоями для КРС молочного направления продуктивными признаками, являются жир и белок молока. Одним из основных белков в молоке является каппа-казеин. Среди казеиновых генов наиболее изучен ген каппа-казеина (CSN3). Генетические полиморфные варианты А и В наиболее распространены, а остальные аллели являются редкими. Ген каппа-казеина имеет генотипы CSN3 AA, CSN3 AB, CSN3 BB. По данным различных исследователей, В-аллель гена к-казеина коррелирует с высоким содержанием белка в молоке, высоким выходом творога и сыра.

Объектом исследования явились быки-производители и коровы бурого типа «Ак-Ырыс» из двух хозяйств Алматинской области и коровы красно-пестрого типа «Ертис» из Восточно-Казахстанской области. Для исследования использовали образцы ЭДТА-обработанной периферической крови.

Проанализированы генотипы 38 животных. Определение аллельных вариантов каппа-казеина проводили методом ПЦР-ПДРФ анализа. По результатам генотипирования, у обследованных животных выявлены все три генотипа по локусу гена каппа-казеин: AA, AB, BB. У животных бурого типа КРС из Алматинской области соотношение генотипов следующее: у 6 особей генотип – AA (33,3 %), у 7 особей генотип – AB (38,8 %) и 3 особей генотип – BB (16,6 %). Таким образом генотип BB является более редким в данной группе.

Анализ крови животных красно-пестрого типа КРС из Восточно-Казахстанской области выявил следующее соотношение генотипов по гену каппа-казеина: 10 особей гомозиготны по генотипу AA (50 %), 7 особей гетерозиготны по генотипу AB (35 %) и 1 животное гомозиготное по генотипу BB (5 %). Таким образом, BB генотип встречается с еще меньшей частотой у красно-пестрого типа КРС, чем у животных бурого типа.

Генотип BB по к-казеину считается экономически важным селекционным критерием для КРС молочного направления продуктивности.

По результатам исследования можно сделать вывод, что качество молока по гену каппа-казеина выше у бурого типа КРС из Алматинской области.

---

## **ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ ДАУНА ПО ДАННЫМ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛНОГЕНОМНЫХ ПРОФИЛЕЙ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК**

***О.Ю. Наумова<sup>1</sup>, В.В. Одинцова<sup>2</sup>, Д.В. Анциферова<sup>2</sup>,  
Е.В. Шабалина<sup>2</sup>, Е.Л. Григоренко<sup>2,3</sup>***

*<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Российская Федерация, 119991, г. Москва, ул. Губкина, 3*

*<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9*

*<sup>3</sup>Yale Child Study Center, USA, 06520 New Haven CT, S. Frontage Road 230*

*E-mail: oksana.yu.naumova@gmail.com*

Синдром Дауна (СД) – одна из наиболее распространенных патологий с частотой встречаемости в среднем 1 на 700 новорожденных, связанная с наличием дополнительных копий гене-

тического материала за счет трисомии по 21 хромосоме или транслокации ее участков. Несмотря на то, что этиология СД выявлена еще в середине прошлого века, структурные нарушения генома не могли в полной мере объяснить широкий спектр фенотипических проявлений СД (свыше 80 клинически определяемых фенотипов), связанных с интеллектуальной инвалидностью, “ускоренным старением” и целым спектром нарушений развития систем и органов. Полностью объяснить данный феномен также не удалось и исследованиями активности локализованных на 21 хромосоме генов, экспрессия которых зачастую находилась неизменной, несмотря на ожидаемый эффект «дозы гена».

В течение последнего десятилетия исследования геномики и эпигенетики развития в норме и при патологиях позволили сформировать представление о глобальной дестабилизации системы активности генома, отягощенного анеуплоидией, когда в ходе развития затрагиваются целые регуляторные каскады и генные сети. Последние годы эта гипотеза находит подтверждение в ряде работ. В частности, в когортах взрослых пациентов с СД были выявлены нарушения экспрессии в системе генов, контролирующей окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию и ряд других метаболических процессов, а на эмбриональной стадии развития плода с трисомией по 21 хромосоме были выявлены нарушения в генной регуляции иммунного ответа и дофаминергической сигнальной системы. Таким образом, немногочисленные пока исследования эпигенетических нарушений, сопряженных с СД, ставят вопрос о необходимости выявления специфики нарушений в системе регуляции активности генов у носителей СД на различных этапах развития.

В контексте поставленных задач мы провели пилотное исследование полногеномных паттернов метилирования ДНК (одного из основных механизмов эпигенетического регулирования активности генов) у носителей СД на ранних стадиях развития. Для этого был проведен сравнительный анализ профилей метилирования в клетках периферической крови у детей младшего возраста (от 6 месяцев до 4,5 лет) с установленной трисомией по 21 хромосоме (N=11) с такими же у нормально развивающихся детей соответствующего возраста (N=15). Паттерны метилирования ДНК исследовались с помощью биочипа Illumina HumanMethylation450, что позволило установить уровень метилирования около 480 тыс. сайтов, относящихся к свыше 20 тыс. генов и регуляторных элементов в геноме.

Свыше 3 тыс. сайтов показали значительные (1,5 раза и более) и достоверные ( $p < 0,001$ ) отличия в уровне метилирования в геномах детей с СД, преимущественно, в 85 % случаев, это – повышение метилирования, или гиперметилирование, обнаруженное для 2,5 тыс. сайтов, локализованных в регуляторных элементах 1200 генов. Мы провели анализ функциональной роли этих гиперметилированных генов или генов с ожидаемо пониженной активностью. Было обнаружено, что такой гиперрегуляции подвержены, в первую очередь, биологические процессы, связанные с механизмами позитивной регуляции дифференциации и метаболизма клеток, а также с анатомическим развитием ряда органов, в первую очередь сердечнососудистой системы (рис).

Таким образом, нами были выявлены биологические процессы – основные мишени эпигенетической дисрегуляции при СД на ранних стадиях развития. Продолжение данного исследования в плане расширения когорты и привлечения лонгитюдных подходов, открывает новые перспективы к пониманию роли системных эпигенетических нарушений в формировании разнообразия клинических фенотипов СД и установлению критических этапов их развития.

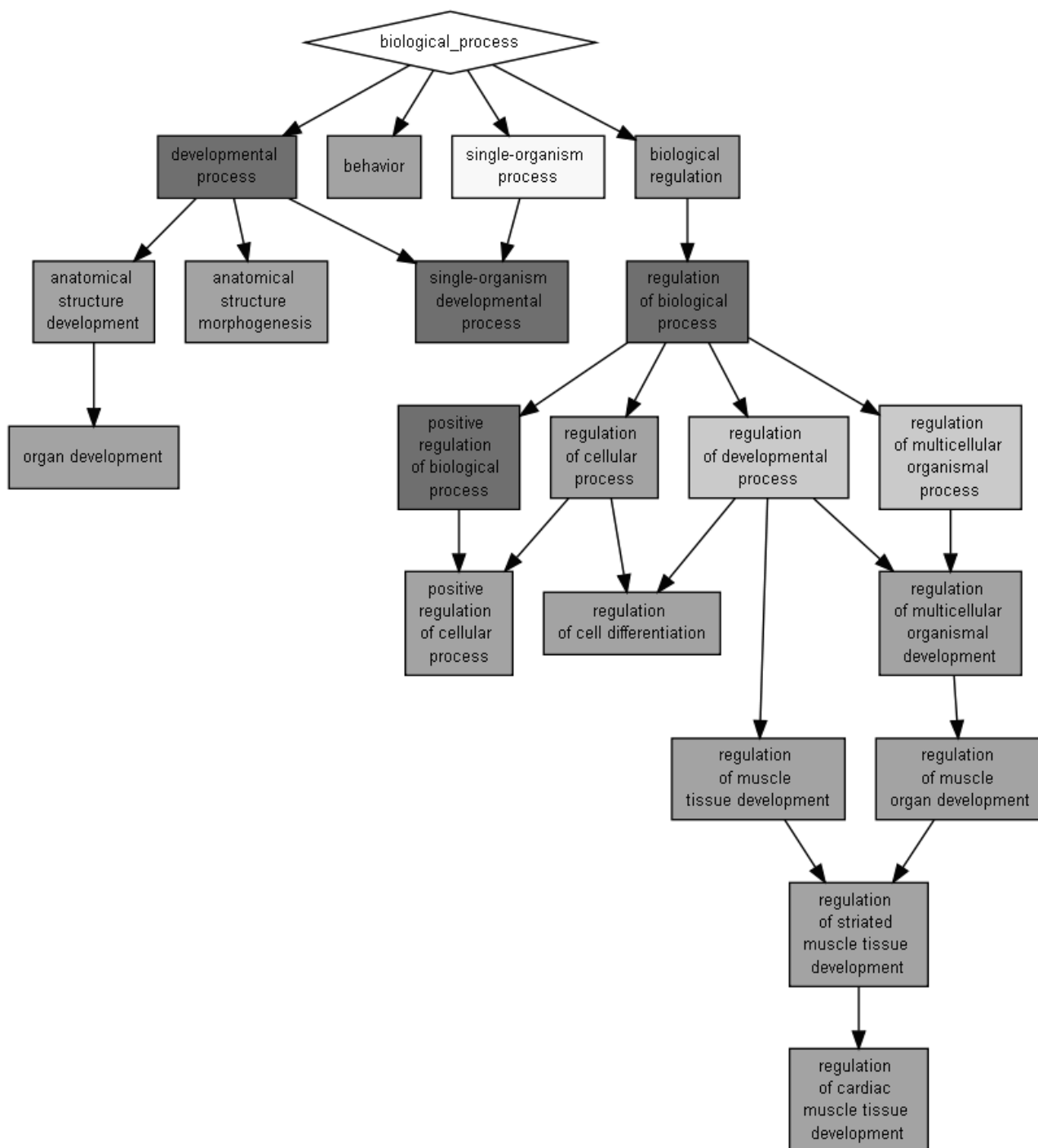


Рис. Биологические процессы в терминах геной онтологии, показавшие статистически значимое обогащение среди генов, гиперметилированных у детей с синдромом Дауна. Уровни значимости показаны цветом: красный –  $p < 10^{-7}$ , оранжевый –  $10^{-5} - 10^{-7}$  и бежевый –  $10^{-3} - 10^{-5}$ . Анализ проведен с помощью аннотационного инструмента GOrilla (<http://cbl-gorilla.cs.technion.ac.il/>)

Работа выполнена при поддержке Правительства Российской Федерации, в рамках гранта для поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых № 14. Z50.31.0027.

# РОЛЬ ГЕНОВ $\text{bla}_{\text{CTX-M}}$ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ

*И.О. Покудина, М.А. Шкурат, К.А. Коваленко*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: ipokudina@mail.ru*

Появление феномена устойчивости возбудителей инфекционных болезней к лечебным препаратам, приводящей к резкому снижению эффективности этиотропной терапии, является серьезной угрозой благополучию и здоровью человечества. Бактериями используются различные механизмы защиты от антимикробных лекарственных средств, причем некоторые бактерии обладают несколькими механизмами защиты одновременно [1]. Интенсивный селективный прессинг антибиотиков, обуславливает быструю эволюцию и распространение новых механизмов резистентности в медицинских учреждениях, среди здоровых лиц и в окружающей среде.

БЛРС являются ферментами, продуцируемыми многими видами бактерий в качестве средства защиты от  $\beta$ -лактамовых препаратов. Гены, кодирующие эти ферменты, в основном расположены на мобильных генетических элементах, что является причиной чрезвычайно быстрого распространения резистентных возбудителей по всему миру. К настоящему времени описано более 890  $\beta$ -лактамаз, многие из вновь выявленных ферментов обладают широким спектром гидролитической активности против большинства классов  $\beta$ -лактамов (<http://www.lahey.org/Studies/>). Для клинической практики имеют значение  $\beta$ -лактамазы нескольких групп:  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра грамотрицательных бактерий, цефалоспорины (AmpC) грамотрицательных бактерий, металло- $\beta$ -лактамазы грамотрицательных бактерий [2].

В настоящее время основную проблему составляют грамотрицательные возбудители семейства ENTEROBACTERIACEA, резистентные к цефалоспорином III поколения, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра – БЛРС. Детектором устойчивости является  $\text{ctx-M}$ , доминирующая в семействе БЛРС [3].

Целью исследования было изучение роли генов БЛРС  $\text{CTX-M}$  в формировании устойчивости к цефалоспорином у внебольничных изолятов *Klebsiella pneumoniae* (36 образцов) и *Escherichia coli* (22 образца), выделенных из биоматериала амбулаторных пациентов г. Ростова-на-Дону.

Для выявления возможности продукции  $\beta$ -лактамаз полученные изоляты бактерий были протестированы на чувствительность к цефалоспорином III поколения: цефотаксиму. Резистентность была зарегистрирована у 21 (58,3 %) изолята *Klebsiella pneumoniae* и 10 (45,0 %) изолятов *Escherichia coli*.

Для выявления генов-маркеров резистентности бактерий к цефалоспорином  $\text{bla}_{\text{CTX-M}}$ , ответственных за продукцию  $\beta$ -лактамаз  $\text{CTX-M}$ , цефотаксимустойчивые изоляты были исследованы методом ПЦР с использованием ПЦР наборов ООО НПО “Литех”. Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 2 %-ном агарозном геле. Анализ электрофореграмм проводили на трансиллюминаторе GelDoc (BioRad).

Положительные результаты амплификации  $\text{bla}_{\text{CTX-M}}$  зарегистрированы у 20 и 10 образцов *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*, соответственно. Относительная частота  $\text{CTX-M}$ -типа БЛРС у цефотаксим-резистентных изолятов, выявленных в нашем исследовании, составила 95 % *K. pneumoniae* и 100 % *E. coli*.

В литературе имеются данные о том, что бета-лактамазы  $\text{CTX-M}$  типа часто выявляются у возбудителей внебольничных инфекций, являющихся потенциальным источником детерминант резистентности [3–5]. Причем доля  $\text{CTX-M}$  положительной кишечной палочки, изолированной от госпитализированных пациентов, здоровых людей и из окружающей среды статистически не отличается между группами исследования [2]. Полученные нами данные подтверждают эту тенденцию.



Таким образом, проведенный мониторинг выявил, что устойчивость к бета-лактамам у внебольничных штаммов *K. pneumoniae* и *E. coli* реализуется за счет продукции  $\beta$ -лактаз, что является одним из ключевых факторов распространения устойчивых штаммов, как в условиях стационаров, так и среди здоровых лиц и в различных объектах окружающей среды.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мудрак Д.А. Молекулярно-генетические особенности устойчивости к бета-лактамам антибиотикам грамотрицательных микроорганизмов – возбудителей нозокомиальных инфекций: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 25 с.
2. George E.A., Sankar S., Jesudasan M.V., Sudandiradoss C., Nandagopal B. Molecular characterization of CTX-M type Extended Spectrum Beta Lactamase producing *E. coli* isolated from humans and the environment // Indian J Med Microbiol. 2015. Vol. 33. Suppl.73–9. PMID:25657161.
3. Breurec S., Guessennd N., Timinouni M., Le T.A., Cao V., Ngandjio A., Randrianirina F., Thiberge J.M., Kinana A., Dufougeray A., Perrier-Gros-Claude J.D., Boisier P., Garin B., Brisse S. Klebsiella pneumoniae resistant to third-generation cephalosporins in five African and two Vietnamese major towns: multiclonal population structure with two major international clonal groups, CG15 and CG258 // Clin. Microbiol. Infect. 2013. Apr. Vol. 19(4). P. 349–355. PMID:22390772.
4. Mariani-Kurkdjian P., Doit C., Bingen E. Extended-spectrum beta-lactamase producing-enterobacteriaceae. // Arch. Pediatr. 2012. Nov. Vol. 19. Suppl. 3. P. 93–96. PMID:23178141.
5. Pitout J.D. Enterobacteriaceae that produce extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and AmpC  $\beta$ -lactamases in the community: the tip of the iceberg? // Curr. Pharm. Des. 2012. Aug 29.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности № 1878 «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».*

---

## ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *MC4R* НА ОТКОРМОЧНЫЕ И МЯСНЫЕ КАЧЕСТВА СВИНЕЙ ПОРОДЫ ДЮРОК

*А.Е. Святогорова<sup>1,2</sup>, А.В. Усатов<sup>1</sup>, О.Л. Третьякова<sup>2</sup>, Л.В. Гетманцева<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Донской государственный аграрный университет, 346493, Российская Федерация, Ростовская обл., Октябрьский (с) р-н, пос. Персиановский, ул. Кривошлыкова, 2

E-mail: sviatogorova.a@yandex.ru

В настоящее время достижение высоких показателей мясных качеств в свиноводстве особенно актуально. Технологии геномной селекции позволяют определять генотип животных с хозяйственно ценными признаками и отбирать на стадии рождения лучших из них для разведения. Ген рецептора меланокортина-4 (*MC4R*) представляет особый интерес в повышении продуктивных качеств, оказывая влияние на контроль массы тела и регуляцию пищевого поведения животных. В литературе приведены результаты исследований по данному гену у различных пород свиней. Так, например, у ландрасов, крупной белой и гибридов (крупная белая х дюрок) [1], у двухпородных гибридов (ландрас х Lantang) [2], а также у гибридов (гемпшир х ландрас) [3], обнаружено, что наличие

генотипа AA по гену *MC4R* коррелирует с повышенной упитанностью туши. У гибридов (крупная белая х пьетрен) и (ландрас х крупная белая) установлена корреляция между генотипом AA с более высокими показателями упитанности туши и меньшим содержанием постного мяса [4].

В работе мы исследовали влияние гена *MC4R* на откормочные и мясные качества свиней породы дюрок с целью определения «желательного» генотипа для повышения продуктивных качеств животных. Анализируемая выборка составила 55 животных: 45 свинок и 10 хрячков породы дюрок ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области. Откормочные и мясные качества оценивали согласно «Инструкции по бонитировке»: скороспелость (дн), толщина шпика (мм), длина туловища (см) и среднесуточный прирост (г). Для ДНК-генотипирования у животных отбирали образцы ткани (ушные выщипы). Полиморфизм *MC4R/TagI* определяли методом ПЦР-ПДРФ. Результаты оценивали электрофоретически в 2 %-ном агарозном геле. Электрофореграммы визуализировали в аналитической гель-документирующей системе ChemiDoc XRS (Bio-Rad, США).

В анализируемой выборке были определены три генотипа гена *MC4R* -AA, AG и GG. Частота аллеля А была выше, чем аллеля G, как у свинок, так и у хрячков, и составила 0,66 и 0,34; 0,70 и 0,30, соответственно. У свинок частота генотипа AG определена на уровне 51,1 %, генотипа AA – 40,0 %, GG – 8,9 %. У хрячков частота генотипа AA составила 50,0 %, AG – 40,0 % и GG – 10,0 %. Следовательно, в исследованной выборке, у свинок наиболее распространен генотип AG, у хрячков – генотип AA.

Для выявления «желательного» генотипа у животных, по результатам контрольного выращивания до 100 кг, были изучены продуктивные показатели. Обнаружено, что свинки с генотипом AA превосходят аналогов с генотипами AG и GG по скороспелости на 6 и 4 дней, длине туловища – на 1 и 5,9 см и среднесуточному приросту – на 50,8 и 37,2 г, соответственно. Свинки с генотипом GG имели более низкий показатель толщины шпика по сравнению с аналогами на 1,5 мм.

Хрячки с генотипом GG продемонстрировали лучшие откормочные и мясные показатели относительно аналогов с генотипами AG и AA. Все показатели у них были выше, чем у аналогов: толщина шпика 2,6 и 1,7 мм, длина туловища – на 4,2 и 1,6 см, среднесуточный привес – на 92,2 и 100,4 г, соответственно. Отсутствие различий по показателям скороспелости, вероятно, связано с небольшой выборкой животных. Дальнейшие исследования позволят нам уточнить данные корреляции.

Таким образом, нами установлено положительное влияние полиморфизма гена *MC4R/TagI* на откормочные и мясные качества свиней породы дюрок. Определен «желательный» генотип AA гена *MC4R* у свинок и GG у хрячков, которые превосходили аналогов по показателям продуктивности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bruun C.S., Jorgensen C.B., Nielsen V.H., Andersson L., Fredholm M. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire // *Animal genetics*. 2006. Выд. 37. № 4. P. 359–362.
2. Chen M., Wang A., Fu J., Llin. Different allele frequencies of MC4R gene variants in Chinese pig breeds // *Archiv fur tierzucht*. 2004. Vol. 47. № 5. P. 463–468.
3. Kim K.S., Larsen N., Short T., Plastow G., Rothschild M.F. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits // *Mammalian Genome*. 2000. Vol. 11. № 2. P. 131–135.
4. Van Den Maagdenberg K., Stinckens A., Claeys E., Seynaeve M., Clinquart A., Georges M., Buys N., De Smet S. The Asp298Asn missense mutation in the melanocortin-4 receptor (MC4R) gene can be used to affect growth and carcass traits without an effect on meat quality // *Animal*. 2007. Vol. 1. № 8. P. 1089–1098.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.*

# ДИНАМИКА ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ ПРИ РАЗВИТИИ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ *Drosophila yakuba* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

К.Е. Усов<sup>1</sup>, И.Э. Вассерлауф<sup>1</sup>, А.А. Коханенко<sup>1</sup>, С.Б. Даулетбаева<sup>2</sup>, В.Н. Стегний<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, 500401, Республика Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 71

E-mail: usovke@rambler.ru

Пространственная организация и функционирование интерфазного ядра эукариот обеспечивается наличием двух типов связей – хромосомно-мембранных и межхромосомных, причем это установлено как для соматических тканей, так и для генеративных (трофоциты яичников). Таким образом, с одной стороны, межхромосомные взаимодействия на основе эктопической конъюгации (особенно, объединение хромосом в хромоцентры) и связь хромосом с оболочкой ядра создают определенную стабильную конструкцию в ядре, с другой же стороны, изменения в организации транскрипционно активных районов хромосом приводят к смене их локализации в ядре. Так, было показано, что ядро не является «жесткой» и статичной структурой и подвержено определенной хромосомной динамике. Было выявлено, что в некоторых случаях перемещение хроматиновых доменов в пространстве интерфазного ядра может быть связано с функционированием ядрышка.

Ранее нами были проведены исследования, которые показали, что у *D. yakuba* (подгруппа *D. melanogaster*) в пространстве ядер трофоцитов плечи хромосомы 2, так же как и плечи хромосомы 3 тесно объединены прицентромерными гетерохроматиновыми блоками. В то же время была обнаружена стадия развития трофоцитов, на которой четко выявлялась разобщенность плеч политенных хромосом 2 и 3 в пространстве ядра, связанная с ярко выраженной декомпактизацией прицентромерного гетерохроматина. Позже подобные изменения морфологии политенных хромосом и изменение их пространственной ориентации в процессе развития трофоцитов были выявлены и у других исследованных нами видов подгруппы *D. melanogaster*.

Известно, что нутриментарный тип оогенеза, имеющий место у *Diptera*, характеризуется тем, что функцию синтеза основной массы рибосомальной РНК, необходимой для развития ооцита, берут на себя трофоциты (тогда как ооциты неактивны в этом отношении), поэтому в них активно функционирует ядрышко. Кроме того, нами с помощью Ag-окрашивания препаратов политенных хромосом трофоцитов *D. yakuba* было установлено, что в ядрах трофоцитов, помимо ядрышка, образованного ядрышкообразующей X-хромосомой, на определенных стадиях оогенеза выявляется второе ядрышко, тесно контактирующее с прицентромерными районами хромосом 2 и 3. Известно, что у самок видов подгруппы *D. melanogaster* в клетках соматической ткани ядрышковый организатор локализован в гетерохроматиновом проксимальном районе X-хромосомы. Однако в геноме существуют последовательности рДНК, которые не встроены в ядрышковый организатор, а располагаются в других участках генома и, возможно, что при определенных условиях они могут участвовать в синтезе рРНК.

Таким образом, нами было сделано предположение, что наблюдаемое изменение морфологии политенных хромосом 2 и 3 и, как следствие, изменение архитектуры ядер в процессе развития трофоцитов яичников у *D. yakuba* может быть связано с образованием и активным функционированием ядрышка. В настоящей работе нами была проведена флуоресцентная *in situ* гибридизация ДНК-зонда (рДНК *D. yakuba*) с препаратами политенных хромосом трофоцитов яичников *D. yakuba*. В результате рДНК была локализована не только в проксимальном районе

X-хромосомы, но и в прицентромерных районах хромосом 2 и 3. Причем на определенной стадии развития трофоцитов, где выявляется разобщенность плеч хромосом 2 и 3 в пространстве ядра, из декомпактизованных районов прицентромерного гетерохроматина выпетливаются хроматиновые тяжи, которые содержат яркие сигналы рДНК, что свидетельствует о ее транскрипционной активности. Таким образом, в прицентромерных районах политенных хромосом 2 и 3 трофоцитов *D. yakuba* локализованы активно транскрибирующиеся гены рРНК, которые участвуют в образовании ядрышка. При этом происходит декомпактизация прицентромерных гетерохроматиновых районов хромосом 2 и 3 и, как следствие, изменение пространственной организации данных хромосом при развитии трофоцитов яичников.

*Работа проведена при финансовой поддержке Программы «Научный фонд им. Д.И. Менделеева Томского государственного университета» и частичной поддержке гранта РФФИ № 15–34–50705.*

---

## **ЭТНОГЕНЕЗ НАСЕЛЕНИЯ ВЕРХНЕГО ПОДВИНЬЯ. ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ И АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ОСТАНКОВ**

***Е.М. Чекунова<sup>1</sup>, М.К. Чекунов<sup>2</sup>***

*<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и селекции, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 7/9*

*<sup>2</sup>ООО «Алатырь», 198264, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Пограничника Гарькавого, 26/1*

*E-mail: elena\_chekunova@mail.ru; micha\_chek@mail.ru*

Изучение этнической истории – фундаментальная проблема, к решению которой все чаще привлекается этногеномика. Среди обширного перечня исторических источников важное место занимают данные о структуре генофонда народа. Целью работы стало изучение изменчивости состава населения региона Верхнего Подвинья (Северо-Запад России, территории Велижского р-на Смоленской обл. и Усвятского и Невельского р-на Псковской обл.) на протяжении длительного промежутка времени, по данным археологии, этногеномики и палеогенетики. Для воссоздания демографической истории народов, населявших эту территорию, осуществлено генотипирование коренного населения в районе трех археологических микрорегионов: Сертейского, Усвятского и Сенницкого. Исследовали пробы слюны, взятые у коренных жителей, подтвердивших свою родословную вплоть до начала XIX века. Также были генотипированы костные останки из археологических памятников данных микрорегионов.

Геномный полиморфизм коренного населения изучали по полиморфным ДНК-маркерам Y-хромосомы и митохондриального генома. ДНК-типирование SNP-маркеров Y-хромосомы позволило обнаружить только европейские гаплотипы: R1a (50 %), R1b (19 %), N1c (25 %) и I1a (6 %). Половина исследованных мужчин оказались носителями маркера M17 индо-европейской гаплогруппы R1a, представители которой в ледниковый период (20 тыс. лет назад) заселяли территорию современной Европы. Типирование по маркерам митохондриальной ДНК показало, что большая часть исследованных коренных жителей (62 %) принадлежит к HV-субгруппе (включающих H, H2, V and HV).

Субгруппу U (U, U4, U5) детектировали в 23 % проанализированных проб. Минорная компонента – представители групп: T1, K, W, J1b, N1b. Все выявленные гаплогруппы относятся к западно-евразийскому кластеру.

В работе были исследованы четыре пробы археологических останков из памятников региона Верхнего Подвинья, датируемых 5200 л.н. (Сертея VIII), серединой III тыс до н.э. (Сертея II), первым тысячелетием до нашей эры, (городище Анашкино) и VIII–X веками нашей эры (могильник Девичьи Горы). Анализ митохондриальных ДНК показал, что палеоматериал относится к мт-гаплогруппе H, возникшей примерно 20–25 тыс. лет назад. По маркерам Y-хромосомы, костные останки из памятников Сертея VIII и Анашкино были отнесены к гаплогруппе R1a, а из Сертея II и могильника Девичьи горы – к финно-угорской гаплогруппе N1c.

Результаты исследований показали, что коренные жители Верхнего Подвинья являются потомками древних обитателей этой территории, и их генофонд, по-видимому, сформировался как европейская популяция, начиная с эпохи неолита. Время появления носителей различных гаплогрупп и их взаимодействие в рассматриваемом регионе остается дискуссионным и требует дальнейших исследований. Разработанные методики генотипирования ископаемых костных останков из археологических памятников позволяют установить пол и этнос древних обитателей любой территории, а также делать выводы о датировках и системе расселения на ней, что значительно расширяет возможности получения новых знаний о структуре генофондов в контексте исторических и природных процессов.

АКТИВАЦИЯ ПЕРОКСИДАЗ III КЛАССА В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ РАСТЕНИЙ, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫМ ГЕНОМ *rolB*

*Т.В. Авраменко, Г.Н. Веремейчик, Ю.Н. Шкрыль, В.П. Булгаков*

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, 690022, Российская Федерация, г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостоку, 159

E-mail: avrtanya@yandex.ru

Производство растительных пероксидаз III класса культурами клеток растений представляет большой интерес в связи со множеством областей их практического применения. В данной работе были исследованы нормальные и *rolB*-трансгенные клеточные культуры родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) и смолевки обыкновенной (*Silene vulgaris* (M.) G). Трансгенные клеточные культуры родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) и смолевки обыкновенной (*Silene vulgaris* (M.) G) были получены в результате трансформации *Agrobacterium tumefaciens* штамм GV3101, несущий pPCV002–35S-*rolB* конструкцию [1]. Экстракция белка, определение пероксидазной активности и анализ изоферментов проводили по методике описанной ранее [2]. Активность фермента выражали в нкат, коэффициент экстинкции  $\epsilon_{593} = 2.1 \times 10^4$  нкат  $M^{-1} cm^{-1}$ .

Данные культуры имели разный уровень активности пероксидаз и, значит, могли отличаться по степени их активации: так, в не трансформированной линии *S. vulgaris* уровень пероксидазной активности был очень низок – 0,32 нкат/г (рис. 1, б), тогда как в нормальной культуре *R. roseus* базовый уровень пероксидазной активности был значительно выше – 8,4 нкат/г. Методом анализа ПЦР-РВ мы установили уровень экспрессии гена *rolB* в трансгенных линиях RrB и SB (рис. 1, а). Результаты измерения общей пероксидазной активности, представленные на рисунке 1, б, показали 2,1- и 75-кратное увеличение ферментативной активности в трансгенных линиях RrB и SB, соответственно, что свидетельствует о наличии активирующего эффекта трансгена на пероксидазы *R. roseus* и *S. vulgaris*. Вероятно, что бóльший эффект *rolB* оказывает на клетки с низким базовым уровнем активности пероксидаз, тогда как в клетках с более высоким уровнем пероксидаз эффект активации менее выраженный. Данное предположение согласуется с результатом изоферментного разделения пероксидаз *R. roseus* и *S. vulgaris* (рис. 2).

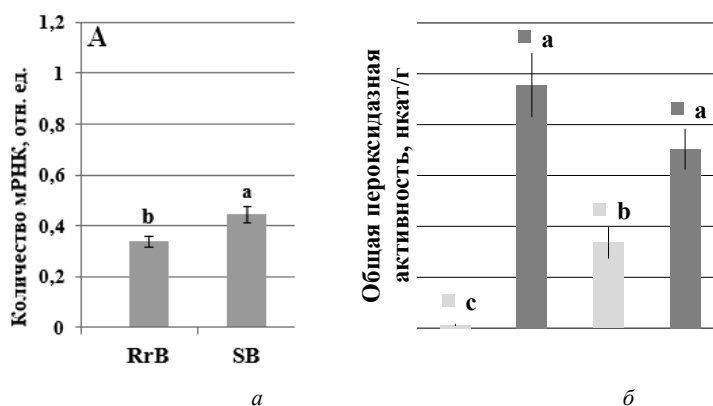


Рис. 1. Экспрессия гена *rolB* (а) и общая пероксидазная активность (а) в клеточных культурах *R. roseus* и *S. vulgaris*: Rr и S – нетрансформированные культуры; RrB и SB – *rolB*-трансгенные клеточные линии *R. roseus* и *S. vulgaris*, соответственно. Данные представлены в виде средних значений  $\pm$  стандартная ошибка

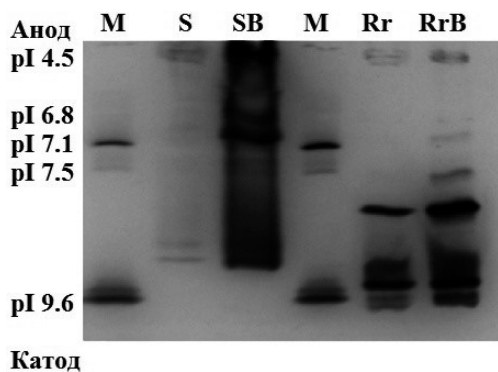


Рис 2. Изоферментный паттерн пероксидаз пероксидаз в нормальных и *rolB*-трансгенных клеточных культурах *R. roseus* и *S. vulgaris*: М – маркер для изоэлектрического фокусирования; Rr и S – контрольные клеточные культуры; RrB и SB – *rolB*-трансгенные клеточные линии *R. roseus* и *S. vulgaris*, соответственно

Таким образом, нами показано, что *rolB*-трансгенные клеточные культуры родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) и смолевки обыкновенной (*Silene vulgaris* (M.) G), характеризуются увеличенным содержанием растительных пероксидаз III класса. Ген *rolB* обеспечивает стабильную и постоянную активацию пероксидазной активности ферментов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Khodakovskay M.V., Glazunov V.P., Zvereva E.V., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. Effects of salicylic acid, methyl jasmonate, etephone and cantharidin on anthraquinone production by *Rubia cordifolia* callus cultures transformed with *rolB* and *rolC* genes // Journal of Biotechnology. 2002. Vol. 97. № 3. P. 213–21.
2. Veremeichik G.N., Shkryl Y.N., Bulgakov V.P., Avramenko T.V., Zhuravlev Y.N. Molecular cloning and characterization of seven class III peroxidases induced by overexpression of the agrobacterial *rolB* gene in *Rubia cordifolia* transgenic callus cultures // Plant Cell Reports. 2012. Vol. 31, № 6. P. 1009–1019.

## МИГРАЦИЯ ПОЛЯРНЫХ И БОРДЮРНЫХ КЛЕТОК В ООГЕНЕЗЕ *Calliphora erythrocephala* (MG), *Protoformia terranova* (R-D.) И *Sarcophaga* sp. (DIPTERA)

Т.В. Ананьина, К.М. Климова

Национальный исследовательский Томский государственный университет, НИИ биологии и биофизики, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36  
E-mail: tany\_a@list.ru

Миграция клеток играет ключевую роль в процессе развития животных. Хорошей моделью для изучения механизмов миграции клеток в ткани являются кластеры из бордюрных и полярных клеток в яйцевых камерах дрозофилы. У дрозофилы кластер из полярных и бордюрных клеток теряет контакт с соседними фолликулярными клетками на переднем конце яйцевой камеры и мигрирует между питающими клетками к ооциту в течение стадии 9 оогенеза [1]. На стадии формирования яйца эти клетки принимают участие в формировании специализированной структуры яйцевой оболочки – микропиле и секретируют белок, участвующий в формировании головной и хвостовой частей эмбриона [2]. Изучение механизмов, которые регулируют превращение стационарных эпителиальных клеток в мигрирующие клетки, может дополнить имеющуюся информацию о протекании процессов в оогенезе и эмбриогенезе двукрылых насекомых, а также внести вклад в развитие представлений о механизмах опухолевых инвазий.

Целью нашего исследования было выяснить, происходит ли образование кластера из фолликулярных клеток в оогенезе у других представителей двукрылых насекомых. Объектом исследования служили яйцевые камеры из яичников *C. erythrocephala*, *Pr. terranovaе* и *Sarcophaga sp.* Ядра клеток окрашивали флуоресцентным красителем DAPI, фибриллярный актин – фаллоидином, конъюгированным с FITC. Препараты анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа AxioImager Z1 и модуля ApoTome. Обработку микрофотографий и генерацию трехмерных моделей делали в программе AxioVision 4.7.

Было показано, что у мух *C. erythrocephala*, *Pr. terranovaе* и *Sarcophaga sp.* образование и миграция кластеров протекает по общей схеме. Образование кластера начинается с инвагинации между питающими клетками нескольких клеток фолликулярного эпителия на переднем полюсе яйцевой камеры. Затем клетки формируют кластер сферической формы и отделяются от переднего полюса яйцевой камеры. На этой стадии в составе кластера можно выделить две расположенные рядом клетки, отличающиеся от других клеток кластера меньшим размером ядер. Вероятно, это полярные клетки и на этой стадии они располагаются на заднем полюсе кластера (ориентированны к ооциту). С началом миграции полярные клетки постепенно занимают позицию в центре кластера, так как способностью к активному перемещению обладают только бордюрные клетки [3]. Кластеры из разных яйцевых камер на стадии активной миграции отличаются по форме, что, вероятно, является следствием изменения относительных позиций бордюрных клеток во время движения, как было описано у дрозофилы [1]. Перемещение бордюрных клеток происходит в результате образования под плазматической мембраной параллельно направленных толстых актиновых пучков, формирующих большие выросты плазматической мембраны. На заключительном этапе миграции, когда кластер проходит между питающими клетками, непосредственно связанными с ооцитом, его форма изменяется на дисковидную с центральным расположением полярных клеток. После того, как мигрирующие клетки достигают переднего полюса ооцита, они распределяются по наружной поверхности ооцита таким образом, что между полярными клетками и ооцитом располагается монослой из бордюрных клеток.

Стадии миграции кластера схожи у трех изученных видов мух и соответствуют стадиям, описанным у дрозофилы [1, 3]. Однако наблюдались отличия в количестве клеток, формирующих кластеры. Так, у *Pr. terranovaе* 2 полярные клетки обычно окружены 10 бордюрными клетками. В некоторых случаях число бордюрных клеток варьировало от 8 до 14. У *C. erythrocephala* более чем в 60 % яйцевых камер кластеры состоят из 2 полярных и 7 бордюрных клеток, но встречались кластеры, содержащие от 6 до 9 бордюрных клеток. У мух рода *Sarcophaga* кластеры состоят из 18 – 23 клеток (2 полярные, 16–21 бордюрных).

Таким образом, было показано, что у трех изученных видов мух в кластерах полярных и бордюрных клеток из яйцевых камер всегда присутствовало по 2 полярные клетки. Виды отличаются по числу бордюрных клеток, причем число бордюрных клеток в кластерах в пределах вида также варьирует.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Tekotte H., Tollervy D., Davis I. Imaging the migrating border cell cluster in living *Drosophila* egg chambers // *Dev. Dyn.* 2007. № 236. P. 2818–2824.
2. Grammont M., Irvine K.D. Organizer activity of the polar cells during *Drosophila* oogenesis // *Development.* 2002. № 129. P. 5131–5140.
3. Montell D.J. Border-cell migration: the race is on // *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2003. № 4. P. 13–24.

*Исследование проводилось при финансовой поддержке программы «Научный фонд им. Д.И. Менделеева Томского Государственного Университета».*



# ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТРЕХМЕРНЫХ (3D) КЛЕТОЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ IN VITRO

***И.В. Видяшева<sup>1,2</sup>, М.В. Ломова<sup>1</sup>, А.А. Абалымов<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им Н.Г. Чернышевского, 410012, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

<sup>2</sup>Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии Минздрава РФ, 410002, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Чернышевского, 148

E-mail: irinabiochemist@yandex.ru, lomovamv85@mail.ru, snowman.27@icloud.com

В регенеративной медицине тканевая инженерия является одним из направлений, занимающихся созданием биологических заменителей тканей и органов. Мы считаем, что магнитные нанокapsулы имеют большой потенциал в качестве универсальных платформ для точной целевой доставки конкретных клеток. Это может быть перенос остеогенных клеток для восстановления костной ткани или создание сложных 3D структур методом послойного наложения пластов клеток.

Благодаря связыванию магнитных частиц с ионными механочувствительными каналами мембраны инициируется биохимический ответ клетки при воздействии переменного магнитного поля, что может стимулировать рост ткани. К данным частицам предъявляется ряд требований: нетоксичность, биodeградируемость, заряд, размер, опсонизация, фагоцитируемость и способность клеток к пролиферации.

Сотрудниками нашей лаборатории были проведены исследования по оценке токсичности магнитных частиц с различными культурами клеток млекопитающих, в том числе человека. Токсичность частиц оценивали *in vitro* с помощью следующих клеточных линий – HeLa, Hep2, MA-104, A-549, MDCK, первичные фибробласты и кератиноциты кожи человека. Эксперименты показали отсутствие токсического эффекта магнитных капсул на данные типы клеток. Оценку состояния клеток, культивируемых на данном материале, проводили с помощью инвертируемого микроскопа и счетчика клеток.

Клетки, нагруженные магнитными наночастицами, могут легко перемещаться под воздействием магнитного поля, при этом для перемещения достаточно добавить 5 частиц на клетку. Перемещение частиц не оказывает негативного влияния на дальнейшую их адгезию и пролиферацию. С помощью конфокальной микроскопии было продемонстрировано, что магнитные частицы способны не только опсонизировать клетки, но и проникать внутрь.

Целью будущей работы является создание трехмерной клеточной конструкции путем воздействия магнитного поля на пласты клеток с опсонизирующими и фагоцитирующими магнитными частицами. Для получения такой конструкции в культуру клеток планируется добавление суспензии магнитных частиц (количество частиц на клетку определяется параметрами эксперимента) и далее под воздействием магнитного поля будет осуществляться направленный перенос клеток с целью наложения данных клеточных пластов друг на друга с целью формирования эквивалента ткани.

---

## ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА УПРАВЛЕНИЯ ЭМБРИОНАЛЬНЫМ РАЗВИТИЕМ

***Э.Б. Всеволодов, И.Ф. Латыпов, А.С. Мусаева***

Институт общей генетики и цитологии КН МОН Республики Казахстан, 050060, Республика Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 93

E-mail: aimus\_@mail.ru

Наиболее важной стороной индивидуального развития является понимаемая в самом широком смысле дифференцировка тела развивающегося организма на органы и ткани, которые

появляются на определенной стадии развития в строго определенных местах. Не искусственные в биологии развития люди на вопрос, почему органы появляются строго в определенной части тела эмбриона, уверенно отвечают, что эти места наследственно обусловлены. Но наследственно обусловлен означает записан в структуре генетического аппарата клеток, т.е. в ДНК хромосом. Как известно, геном во всех клетках организма один и тот же. Поэтому из структуры самого генома не может поступить информация о том, в какой части эмбриона начнется образование данного органа. Появление органов и тканей предполагает синтез в разных тканях разных структурных и других белков. Для этого должны быть активированы гены, кодирующие разные структурные белки в клетках разных тканей и органов. Если в данном месте активировались гены данных структурных белков, то, что помешало этим же генам активироваться в любом другом участке тела эмбриона? Локальное включение структурных генов, присутствующих во всех клетках зародыша, но экспрессирующихся исключительно или преимущественно только в некоторых тканях и органах должно происходить под влиянием позиционной информации, локально воздействующей на клетки только в данном месте эмбриона.

Эта информация сама по себе не является генетической, а связана с тем обстоятельством, что первоначально однородные части эмбриона попадают в разные условия и подвергаются разным воздействиям или по-разному реагируют на одинаковые воздействия. В продвинутых в развитии эмбрионах уже сформированные зачатки органов воздействуют на часть поля еще однородных клеток, выделяя медленно диффундирующие белки – паракринные факторы. Эта часть поля получает импульс к развитию (индукцию в соответствии с терминологией механики развития Шпемана) в направлении иных тканей или органов (например, хрусталик глаза), чем клетки остальных частей поля (формирующих эпидермис головы), не подвергшихся такому локальному воздействию. Действие позиционной информации приводит к формированию специфической для ткани эпигенетической наследственности, которая проявляется в синтезе набора регуляторных белков, причем этот набор способен активировать как гены белков самого набора, так и других генов тканеспецифической экспрессии, придавая относительную устойчивость тканевой дифференцировке. Так, при совместном культивировании в одной и той же среде *in vitro* клеток двух разных тканей от одного и того же животного мы имеем ситуацию – геном клеток идентичен, среда идентична, а клетки сохраняют тканевую специфику (например, фибробласты и почечный эпителий), воспринимаемую нами как «инерция» дифференцировки.

У более ранних зародышей, где мало или нет локально обособленных источников позиционной информации, срабатывают такие примитивные факторы, как место вхождения сперматозоида, детерминирующее будущую брюшную сторону зародыша (дорзо-вентральную ось тела). Другой пример – детерминация сегментов туловища у позвоночных и также у далеких от них членистоногих посредством воздействия конкретных диапазонов концентрации ретиноевой кислоты в формирующемся ее кранио-каудальном градиенте концентрации в теле эмбриона. При этом место органов подсказывается клеткам не генами, а факторами негенетической информации, в ответ на которые, в конечном счете, активируются в клетках гены тканеспецифической экспрессии.

Таким образом, вряд ли возможно существование генетически обусловленного целостного плана развития зародыша. Убедительнее всего это доказывается получением химерных организмов даже у столь сложных животных, как млекопитающие. Британским ученым удалось получить нормально построенный единый химерный организм, соединив ранние эмбрионы козы и овцы и пересадив их в матку одного из этих видов. Родился козо-ягненок с одной головой, четырьмя ногами нормальным анатомически единым туловищем, у которого часть кожи на туловище была чисто козлиная, часть чисто овечья, а часть совмещала признаки обоих видов. Если бы у каждого исходного эмбриона предсуществовал свой генетически закодированный план развития зародыша, такое гармоничное животное не могло бы сформироваться, а следовало бы ожидать причудливое уродство с удвоенным числом, по крайней мере, части.

Как подчеркивает известный британский биолог Dawkins, ход развития эмбриона основан, по-видимому, только на взаимодействии (т.е. реакциях) соседних клеток эмбриона друг с другом,

а не на реализации предсуществующего генетического плана развития. Он сравнивает развитие эмбриона в этом отношении со строительством муравейника, где также нет где-то локализованного проекта, с которым каждый рабочий муравей мог бы согласовывать свои очередные действия в ходе строительства.

Таким образом, развитие разных органов путем разворачивания генетической информации в пространстве вряд ли возможно, хотя развитие подробностей строения органов во времени от начала дифференцировки, до ее полной зрелости вполне возможно путем последовательной каскадной активации новых и новых генов тканеспецифической экспрессии.

Особое место в проблеме дифференцировки на «органы» занимает формирование сложно устроенных морфологически одноклеточных организмов. Например, одноклеточная ацетабулярия внешне напоминает многоклеточное растение с корневой частью, тонким стволиком и «кроной» на его вершине. Транскрипты генов белков, образующих крону, формируются, естественно, в ядре, локализованном в корневой части водоросли. Но эти транскрипты или белки каким-то образом должны отмежеваться от других белков и транскриптов и удалиться на максимальное расстояние от ядра вверх и там сформировать «крону». Механизм этого перемещения неизвестен, но можно допустить, что срабатывает либо подобный хроматографии механизм, либо включение трансляции только в транскриптах, попавших в условия верхней части водоросли.

---

## ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОГЛИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ В ГЛИОМАХ

*А.О. Гранкина, Е.Ю. Кириченко, А.К. Логвинов, М.А. Акименко,  
С.Ю. Филиппова, А.Ю. Рожков, Г.А. Чурюмова*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского,  
344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: grankina.anastasia@mail.ru; kiriche.evgeniya@yandex.ru*

Злокачественные глиомы занимают ведущее место в структуре нейроонкологических заболеваний. В настоящее время глиальные опухоли рассматриваются как системное заболевание ЦНС, патогенез которого может быть связан с нарушением межклеточных взаимодействий посредством щелевых контактов. Щелевые контакты (ЩК) являются межклеточными каналами, образующимися посредством сочленения двух коннексонов (полуканалов), состоящих из 6 коннексиновых субъединиц, сгруппированных вокруг гидрофильной поры, пронизывающей мембрану. Коннексоны могут быть гомомерными, если содержат коннексин одного типа, и гетеромерными, если содержат множественные коннексины. Коннексины – политопные интегральные мембранные крупные белки (25–28 кДа), 4 раза пересекающие мембрану, имеющие две внеклеточные петли (EL-1 и EL-2), цитоплазматическую петлю (CL) с N-концом (AT) и C-концом (CT), вдающимися в цитоплазму. ЩК электрически и биохимически соединяют цитоплазмы соседних клеток, обеспечивая свободное прохождение небольших цитозольных молекул, таких как ионы, нуклеотиды, аминокислоты, короткие пептиды, вторичные мессенджеры и другие метаболиты. По своей сути, ЩК являются критическими мембранными структурами для поддержания нормального эмбрионального развития и клеточных функций, в том числе пролиферации, дифференцировки и взаимодействия с окружающей тканевой средой. Нарушение этих функций имеет значительное этиопатогенетическое значение для формирования новообразований.

Целью настоящей работы являлось иммуногистохимическое исследование нейронального коннексина 36, а также анализ соотношения экспрессии коннексина 36 и нейроглиальных антигенов в астроцитарных опухолях головного мозга человека различной степени злокачественности.

Материалом для исследований служили фрагменты астроцитарных опухолей головного мозга человека, локализованных, преимущественно, в лобных долях, резецированные оперативным

путем. Для иммуногистохимического исследования срезов использовали первичные мышинные моноклональные и кроличьи поликлональные антитела – нейрофиламенты, глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), синаптофизин, anti-Connexin 36 (Cx36) и систему визуализации Dako EnVision System + Peroxidase (DAB).

На препаратах, окрашенных гематоксилином эозином, астроцитомы Grade II представлена опухолевыми астроцитами с редким расположением клеточных тел и относительно мономорфными ядрами, фигуры митозов и пролиферация эндотелия сосудов при этом отсутствуют. Во всех образцах астроцитом (Grade II) была отмечена выраженная реакция с антителами к белкам нейрофиламентов и синаптофизину. Исследование экспрессии Cx36 в этих же опухолях выявило интенсивную реакцию на мембране тел и отростков и умеренную цитоплазматическую реакцию клеток. В исследованных образцах анапластических астроцитом (Grade III) экспрессия синаптофизина имела очаговый характер. В нейропиле наблюдались локусы как интенсивной, так и слабо выраженной реакции. Экспрессия нейрофиламентов также была выражена слабее, чем в астроцитомах. Глиобластомы характеризовались заметным снижением экспрессии всех нейрональных маркеров. При этом все образцы разделились на три группы, в которых наблюдались: 1) большая экспрессия синаптофизина; 2) значительное окрашивание нейрофиламентов; 3) коэкспрессия обоих нейрональных белков. Можно предположить, что наличие нескольких иммуногистохимических вариантов глиобластом отражает различие в степени малигнизации и может иметь диагностическое и прогностическое значение.

Результаты иммуногистохимического выявления коннексина 36 в глиобластомах существенно дополняют известные сведения литературы об иммунопозитивности нейронных маркеров в глиомах высокой степени злокачественности. Высокая реактивность антител к коннексину 36 ставит вопрос об их использовании для выявления новых эффективных показателей диагностики и прогноза развития первичных опухолей головного мозга. Новые сведения о снижении содержания исследованных нейрональных белков, особенностях их распределения и нарушении коэкспрессии синаптофизина и коннексина 36 по мере повышения степени злокачественности глиальных опухолей, а также об иммуногистохимической гетерогенности глиобластом расширяют представления о патогенезе опухолей мозга и определяют направление дальнейших исследований.

*Работа поддержана проектной частью внутреннего гранта Южного федерального университета № 213.01–07–2014/05ПЧВГ «Имуногистохимическое исследование нейроглиальных взаимоотношений и межклеточных контактов в мозге в норме и при развитии глиальных опухолей», рук. Е.Ю. Кириченко.*

---

## **МОНОСЛОИ ФОТОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО КРАУН-ЭФИРА КАК ОСНОВА ДЛЯ ХЕМОСЕНСОРНОГО НАНОМАТЕРИАЛА НА ИОНЫ СЕРЕБРА**

*И.С. Зайцев, Д.О. Соловьева, М.С. Царькова, С.Ю. Зайцев*

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23  
E-mail: chemil@inbox.ru; szaitsev@mail.ru*

Применение фоточувствительных и поверхностно-активных производных краун-эфиров открывает широкие возможности для создания современных хемосенсоров для определения катионов тяжелых металлов в воде [1]. Для получения оптического отклика может быть достаточно ультратонких пленок (толщиной в монослой, т.е. около 2 нм) при условии применения соответ-

ствующих методов определения [2]. Ранее было показано [3], что для стабилизации монослоев фоточувствительных производных краун-эфиров необходимо применение поверхностно-активных полимеров, наиболее перспективным из которых является поливинилстеарат.

Классическим методом изучения монослоев является определение поверхностного давления и потенциала при различных условиях [2]. Анализ значений площади на молекулу при разных концентрациях ионов  $\text{Ag}^+$  в субфазе показал, что данная зависимость имеет S-образный характер и при низких концентрациях ( $10^{-7} - 10^{-9}$  М) монослой в 1,7–1,8 раз более жидко-растянутый, чем при высоких концентрациях ( $10^{-3} - 10^{-5}$  М). Разница уменьшается с увеличением поверхностного давления, и при давлении свыше 20 мН/м значения площади на молекулу практически совпадают. Соответствующим образом от концентрации ионов  $\text{Ag}^+$  в субфазе зависят форма и положение кривых поверхностного давления. Например, чем меньше концентрация ионов  $\text{Ag}^+$  в субфазе, тем больше разница между значениями площади на молекулу в начале и конце изо-термы поверхностного натяжения. В интервале 15–20 мН/м и при площади на молекулу порядка  $0,45 \pm 0,05$  нм<sup>2</sup> происходит переход из жидко-растянутого в жидко-конденсированное состояние, который не зависит от концентрации ионов  $\text{Ag}^+$  в субфазе.

Следовательно, с помощью смешанного монослоя фоточувствительного производного краун-эфира с поливинилстеаратом можно определять концентрации ионов серебра в воде выше  $10^{-6}$  М, используя метод Ленгмюра. Представленный подход является перспективным для создания хемосенсорных наноматериалов с оптической детекцией определенных катионов тяжелых металлов в водных средах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Zaitsev Sergei Yu., Solovyeva Daria O., Zaitsev Iliia S. Advances in Colloid and Interface Science. 2015. Vol. 222. August. P. 755–764.
2. Зайцев С.Ю. Супрамолекулярные наноразмерные системы на границе раздела фаз: Концепции и перспективы для бионанотехнологий. М.: ЛЕНАНД, 2010. 208 с.
3. Zaitsev Sergei Yu., Solovyeva Daria O., Zaitsev Iliia S., Tsarkova Marina S. Mendeleev Commun. 2015. № 12. in press.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ЦФ РАН С.П. Громову и С.К. Сазонову за предоставление образцов ДТКЭ.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14–03–00154.*

---

## ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА ПОЛУЧЕНИЕ СТЕРИЛЬНЫХ КУЛЬТУР ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ ПЯТИ ВИДОВ РОДА *SAMPANULA*

**О.А. Землянухина, В.Н. Калаев, В.И. Воронина**

Воронежский государственный университет, 394006, Российская Федерация, г. Воронеж, пл. Университетская, 1  
E-mail: oz54@mail.ru

Одной из основных стадий получения жизнеспособной культуры тканей является стерилизация первичного растительного материала, поскольку нередок тот факт, что даже в течение нескольких месяцев после введения растений в условия *in vitro* наблюдается выделение бактериальной инфекции из базальных частей эксплантов. Некоторые авторы для улучшения качества стерилизации добавляют антибиотики непосредственно в среды инкубации [1]. Тем не менее, помещение растений на поверхность питательных сред, дополненных кроме обычных компонентов (макро- и микроэлементов, витаминов, хелата железа, сахарозы в качестве источника

углерода, ростовых гормонов, желирующего агента) антибиотиками приводит к увеличению проявления соматической изменчивости у растений-регенерантов, особенно достигнувших возраста плодоношения (цветения).

В связи с вышеизложенным нами была предпринята попытка подобрать оптимальный антибиотик для усиления поверхностной стерилизации первичных эксплантов и в то же время дающий наименьший выход соматической изменчивости. Для исследования были выбраны коммерческие препараты четырех антибиотиков: канамицина (в концентрации 250 мг/л), бензилпенициллина (в концентрации 250 и 500 мг/л), гентамицина (в концентрации 100 мг/л), клафорана (в концентрации 250 и 500 мг/л). Данные антибиотики использовали для улучшения качества стерилизации при получении культуры ткани четырех видов колокольчиков: *Campanula rotundifolia* L. (колокольчик круглолистный), *Campanula persicifolia* L. (к. персиколистный), *Campanula trachelium* L. (к. крапиволистный), *Campanula rapunculoides* L. (к. рапунцелевидный, или к. Гроссгёйма, или к. репчатовидный), *Campanula glomerata* L. (к. скупенный), произрастающих на территории ботанического сада Воронежского госуниверситета. Указанные виды являются редкими, поэтому разработка методов их сохранения, в том числе методами микроклонального размножения, является актуальной задачей экологии и биотехнологии.

Стерилизацию проводили следующим образом. Участки весенних цветоносов с листьями протирали мочалкой с мыльной водой, нарезали на участки длиной до 7 см и помещали в раствор, содержащий каплю любого моющего средства для посуды для равномерного смачивания поверхностей, на 10 мин на качалку. Затем промывали растения в проточной воде 20–30 мин для удаления основной сапрофитной микрофлоры, после чего промывали дистиллированной водой 10 мин. На следующем этапе растения погружали на 20–30 мин в раствор, содержащий 4 % бытового отбеливателя «Белизна», дополненный 0,01–0,04 % мертиолята (орто-этилртуть-тиосалицилат натрия). Отмывка производилась трижды по 5–10 мин дистиллированной водой. Дополнительная стадия стерилизации заключалась в помещении частей растений на 30 мин в раствор антибиотика, после чего в условиях ламинар-бокса нарезались первичные экспланты и раскладывались на поверхности питательных сред (MS, WPM), дополненных 0,2 мг/л 6-бензиламинопурина и 0,1 мг/л гиббереллина.

Наиболее эффективным для стерилизации оказался бензилпенициллин в концентрации 250 мг/л, наименее – канамицин и клафоран (в концентрации 250 и 500 мг/л). Обработка некоторыми антибиотиками привела к нарушениям в росте и развитии растений. Так, однократная стерилизация канамицином приводит в течение дальнейшего развития адвентивных побегов к нарушению у них синтеза хлорофилла, что вызывает гибель эксплантов («смертельное отсутствие хлорофилла»). Клафоран в концентрации 250 мг/л, обычной при уничтожении свободноживущих бактерий во время генетической трансформации, увеличивает каллусообразование и замедляет рост побегов. Действие гентамицина хотя и дает наибольший процент выживших эксплантов, тем не менее, в течение двух недель приводит к гибели растений. Обработка бензилпенициллином в концентрации 250 мг/л хотя и снизила выживаемость эксплантов, но не привела к нежелательным эффектам, обусловленным соматической изменчивостью, в течение дальнейшего развития и эффективно уменьшила инфицированность растений в процессе культивирования. Эксперименты по дополнению самих питательных сред исследованными антибиотиками выявили постепенный некроз тканей растений и остановку в развитии, что свидетельствует о нецелесообразности их использования в качестве добавки к питательной среде.

В данном исследовании по размножению пяти видов колокольчиков, удалось добиться стабильно пролиферирующей на протяжении полугода культуры при использовании в качестве дополнительной стерилизации растений бензилпенициллином в концентрации 250 мг/л. Отработаны методы получения стерильного материала, показаны различия в действии антибиотиков при поверхностной стерилизации и последующем их введении в питательные среды на выживание, рост и развитие растений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шестибратов К.А., Салмова М.А., Алтаева А.А., Азарова А.Б. Способ клонального микроразмножения сирени *in vitro*. Патент РФ № 2457669 от 2012 г.

# ПРИМЕНЕНИЕ ЦИАНИНОВОГО И СКВАРИЛИЕВОГО КРАСИТЕЛЕЙ В КАЧЕСТВЕ ЗОНДОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АЛЬБУМИНОВ ПОЗВОНОЧНЫХ

***И.Г. Панова<sup>1</sup>, А.С. Татиколов<sup>2</sup>***

<sup>1</sup> *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26*

<sup>2</sup> *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, 4  
E-mail: pinag@mail.ru; tatikolov@mail.ru*

Сывороточные альбумины – основные транспортные белки позвоночных. Одной из главных их функций является доставка разнообразных молекул, в которых нуждается организм, в ткани-мишени. Эта функция основана на свойстве сывороточного альбумина связывать различные молекулы-лиганды. На этом же свойстве основано и применение спектрально-флуоресцентных зондов для обнаружения сывороточного альбумина в биологических системах; при этом зонды, нековалентно связываясь с молекулой альбумина, демонстрируют рост флуоресценции и спектральные сдвиги, что позволяет детектировать даже малые концентрации биополимера.

Для исследования сывороточных альбуминов нами были разработаны спектрально-флуоресцентные зонды ДЭЦ (*мезо*-замещенный цианиновый краситель 3,3'-ди-( $\gamma$ -сульфопропил)-4,5,4',5'-дibenзо-9-этилтиакарбоцианин-бетаин) и СКК на основе скварилиевого красителя с сульфогруппами. Характерным свойством зонда ДЭЦ является способность специфически распознавать молекулы сывороточного альбумина человека. Образование комплекса красителя с альбумином вызывает появление длинноволновой полосы поглощения *транс*-мономера красителя, связанного с альбумином (~612 нм) и резкий рост флуоресценции. Этот зонд оказался эффективным для исследования жидких сред организма человека, например, сыворотки крови и жидких сред глаза, таких как стекловидное тело и жидкость передней камеры. Однако краситель ДЭЦ эффективно и специфически взаимодействует только с сывороточным альбумином человека. С альбуминами других представителей позвоночных животных взаимодействие красителя ДЭЦ слабее, и при этом не проявляется полоса поглощения связанной формы, характерной для альбумина человека (*транс*-мономера). Для исследования сывороточного альбумина у различных представителей позвоночных оказался пригодным зонд СКК, который, как было показано в равной степени (достаточно эффективно) взаимодействует со всеми исследованными альбуминами (человека, быка, кролика, крыс) с ростом флуоресценции. На практике СКК был успешно применен нами для исследования глаз кролика и крыс. Таким образом, разработанные нами зонды могут быть успешно использованы как для диагностических, так и для научно-исследовательских целей.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 13–03–00863.*

---

## АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

***О.В. Тюмина, С.Е. Волчков, П.А. Овчинников, Т.В. Мельникова, А.И. Горина***

*Самарский областной центр планирования семьи и репродукции, 443095, Российская Федерация, г. Самара, ул. Ташкентская, 159*

*E-mail: ovchinnikov@cordbank.ru*

Клеточные технологии – перспективное и укоренившееся направление в развитии современной медицины. Спектр их применения достаточно широк, и во многих случаях уже достигнуты

значительные успехи; многочисленные исследования сейчас находятся на стадии преclinical и клинических испытаний по всему миру.

Целью работы являлось провести анализ результативности применения клеточных технологий в Самарской области.

Клеточные технологии Центра Клеточных Технологий ГБУЗ СОЦП представлены пятью направлениями:

1. Банк пуповинной крови представляет собой современное криохранилище, которое насчитывает более 9 000 образцов пуповинной крови публичного банка, из них 5 500 образцов полностью готовых для трансплантации, и 2 000 образцов пуповинной крови персонального хранения. С 2008 г. из Самарского банка передано на трансплантацию 51 ЕПК для 39 пациентов. Из них 31 в российские трансплантационные центры и 22 в зарубежные. На сегодняшний день известны результаты 21 трансплантации ПК. Из них: приживление трансплантата наблюдалось у 19 (90,5 %) пациентов. Острая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) I–II степени развилась у 4 (19 %) больных, случаев развития тяжелой РТПХ не отмечено. Проявления хронической РТПХ выявлены у 1 (5 %) больного.

2. Клиническое исследование по применению прогенеторных и моноклассных клеток костного мозга для стимуляции неоангиогенеза у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей путем внутримышечного введения по боковым поверхностям голени. У пациентов отмечено увеличение без болевой дистанции ходьбы, улучшение клинических показателей и стойкое повышение уровня качества жизни.

3. Клиническое исследование по применению аутологичных мезенхимально-стромальных клеток жировой ткани и моноклассных клеток пуповинной крови у больных с цирротическим поражением печени. Аутологичные МСК выделялись из жировой ткани пациента полученной с боковых поверхностей живота методом липосакции. Моноклассные клетки пуповинной крови брались из заготовленных публичных образцов Банка пуповинной крови. У пациентов отмечено улучшение биохимических показателей функции печени.

4. Научно-исследовательская работа по определению оптимального источника клеток мезенхимально-стромального ряда для дальнейшего клинического применения. Жировая ткань является оптимальным источником мультипотентных мезенхимально-стромальных клеток с точки зрения этики, безопасности получения первичного материала и эффективности получения большого количества колониеобразующих клеток.

5. Научно-исследовательская работа по тестированию различных материалов на токсичность и биологическую совместимость. Проведение исследования по созданию комбинированных трансплантатов для использования в области клеточных технологий. Получены экспериментальные образцы комбинированных трансплантатов с последующим тестированием на животных.

Таким образом, клеточные технологии являются актуальным, перспективным направлением в медицине. Находятся на активном этапе развития не только за рубежом, но и в России. Применяются при лечении многих заболеваний, доказали свою эффективность, и в некоторых случаях являются единственным методом лечения.

---

## **КУЛЬТУРА КЛЕТОК ОСТЕОБЛАСТОВ *RATTUS NORVEGICUS* КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ИМПЛАНТАТОВ НА ОСНОВЕ ТИТАНА И ЕГО СПЛАВОВ *IN VITRO***

***Ю.Я. Хрунык<sup>1</sup>, И.В. Вялых<sup>2</sup>, С.В. Беликов<sup>1</sup>, А.В. Корелин<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина, 620002, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

<sup>2</sup>Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт, 620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а

E-mail: [juliakhrunyk@yahoo.co.uk](mailto:juliakhrunyk@yahoo.co.uk); [vyalykhivan@ya.ru](mailto:vyalykhivan@ya.ru); [srgbelikov@ya.ru](mailto:srgbelikov@ya.ru); [a.v.korelin@urfu.ru](mailto:a.v.korelin@urfu.ru)

Поиск и разработка имплантационных материалов для замещения костных дефектов является одной из важных проблем медицины. Материалы, применяемые для создания имплантатов,



должны характеризоваться биологической и биомеханической совместимостью, поэтому их разработка требует междисциплинарных исследований на стыке биологии, физики, материаловедения, механики и медицины. На данный момент наиболее используемой моделью для изучения биосовместимости *in vivo* являются крысы *Rattus norvegicus* линии Вистар. Однако при этом затруднено изучение процессов, протекающих на тканевом и клеточном уровне. Так, одним из ключевых факторов, влияющих на интеграцию имплантатов в окружающие ткани, является адгезия, которая позволяет остеогенным клеткам хозяина, в том числе остеобластам, прикрепиться к субстрату, что влияет на дальнейшую дифференцировку остеобластов в остециты, клеточную миграцию, пролиферацию и экспрессию генов, отвечающих за синтез специфических белков [1–5].

Целью данной работы было получение диплоидной клеточной культуры остеобластов крысы линии Вистар в качестве модели для исследований биосовместимости имплантатов на основе титана и его сплавов.

Для получения первично-трипсинизированной культуры использовали инбредные крысы линии Вистар. Из 4-месячной особи извлекали бедренную кость и кости свода черепа. Измельченные фрагменты костей несколько раз промывали в фосфатно-солевом буферном растворе и затем в течение 3 часов подвергали ферментированию энзиматическим коктейлем (0,1 %-ной коллагеназы и 0,25 %-ного раствора трипсина, подогретого до 37 °С). Отмытые костные эксплантаты помещали в культуральные флаконы (25 см<sup>2</sup>) с питательной средой Игла в модернизации Дульбекко (DMEM/F12), содержащую 20 % эмбриональной телячьей сыворотки, 2 mM-глутамин, 1 % антибиотиков (стрептомицин, пенициллин, гентамицин) и инкубировали при температуре 37 °С в атмосфере, содержащей 5 % CO<sub>2</sub>. Среду частично меняли каждые 2 дня. Миграцию остеобластов из кусочков кости наблюдали в течение 10–14 дней. Фазу активного роста клеток наблюдали с 3-го пассажа. Формирование сплошного клеточного монослоя на этой фазе развития культуры происходило на 3–4-е сутки. Коэффициент посева клеток в этот период составлял 1:2. Полученные культуры остеобластов клеток из черепа и бедренной кости взрослой крысы (названные нами ROS-KVB-C и ROS-KVB-F, соответственно), сохранили диплоидный кариотип 2n = 42 и были морфологически охарактеризованы. Данные клеточные культуры будут использованы для биотестирования имплантатов на основе титана и его сплавов *in vitro*, что позволит дать практические рекомендации о возможности и целесообразности применения исследуемых материалов в клинической практике, в первую очередь для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Davies J.E. In vitro modeling of the bone/implant interface // The Anatomical Record. 1996. Vol. 245. P. 426–445.
2. Grassi S., Piattelli A., de Figueiredo L.C., Feres M., De Melo L., Iezzi G. Histologic evaluation of early human bone response to different implant surfaces // Journal of Periodontology. 2006. Vol. 77. P. 1736–1743.
3. Sul Y.T., Johansson C.B., Petronis S., Krozer A., Jeong Y., Wennerberg A., Albrektsson T. Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition // Biomaterials. 2002. Vol. 23. P. 491–501.
4. Ventre M., Causa F., Netti P.A. Determinants of cell-material crosstalk at the interface: towards engineering of cell instructive materials // J. R. Soc. Interface. 2012. № 9. P. 2017–2032.
5. Yim E.K.F., Leong K.W. Significance of synthetic nanostructures in dictating cellular response // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2005. doi:10.1016/j.nano.2004.11.008

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Российской Федерации (постановление № 211, контракт № 02.А03.21.0006).

# ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РНК БЕЛКОВ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА У СУСЛИКОВ ПРИ ГИБЕРНАЦИИ

*Э.З. Эмирбеков, М.З. Пашаева*

*Южный федеральный университет, филиал в г. Махачкале, 367013, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Юсупова, 51*

*E-mail: maya2405@mail.ru*

Целью данной работы явилось исследование экспрессии белков клеточного цикла и выживаемости/гибели клеток в условиях глубокой гибернации сусликов.

Работа выполнена на 16 малых сусликах. Проводили сравнительный анализ экспрессии белков в гипоталамусе сусликов в бодрствующем состоянии и в состоянии естественной гибернации. После эфтаназии мозг сусликов выделяли при минусовой температуре и извлекали гипоталамус. Для протеомного анализа ткани мозга сусликов в процессе гибернации использовали микрочипы Panorama Antibody Microarray – Cell Signaling Kit (Sigma, США), содержащие антитела для выявления более 200 белков, относящихся к различным функциональным системам клетки (внутриклеточная сигнализация, клеточный цикл, апоптоз, адгезия, цитоскелет и др.).

Уровни экспрессии белков оценивали по интенсивности их флуоресценции в пятнах с иммобилизованными антителами. Для этого микрочипы сканировали на сканере GenePix 4100A (Molecular Devices, USA) на длинах волн: 532 и 635 нм.

Установлено, что в состоянии глубокой гибернации в гипоталамусе сусликов изменяется экспрессия белков клеточного цикла, а также белков, влияющих на выживаемость и гибель клеток. Показано повышение экспрессии белков Cdc27, MAP kinase (Erk1/2) одновременно со снижением экспрессии Cdc7 kinase и Cdk6.

В гипоталамусе сусликов в состоянии глубокой гибернации обнаружено повышение экспрессии митоген-активирующих протеинкиназ, также известных как серин/треониновые протеинкиназы, (MAP kinases), что происходит в ответ на действие разнообразных раздражителей, таких как митогены, осмотический стресс, тепловой шок и т.д. Данные протеинкиназы участвуют в регуляции процессов пролиферации, экспрессии генома, дифференциации, митоза, выживаемости клеток, апоптоза. К MAP-протеинкиназам относят киназы внеклеточной регуляции (extracellular regulated kinase 1/2, Erk1/2), которые играют важную роль в процессах синаптической пластичности, и их активация требуется для LTP-зависимого транскрипционного регулирования. Показано, что инактивация MAP-киназ способствует выживаемости раковых клеток. Вероятно, повышение экспрессии Erk1/2 происходит для предотвращения неконтролируемого роста слабо дифференцированных клеток мозга сусликов в состоянии гибернации. Биологическая целесообразность данного явления обусловлена ситуацией одновременного повышения экспрессии белка клеточного цикла Cdc27 в гипоталамусе сусликов.

События клеточного цикла регулируются путем последовательной активации и дезактивации циклин-зависимых киназ, в том числе Cdc27, и путем протеолиза циклина. Cdc27 является компонентом комплекса, стимулирующего анафазу. В настоящее время при изучении сигнальных путей в клетке при развитии раковых опухолей особое внимание уделяют Cdc27, повышение экспрессии которого является маркером высокой выживаемости клеток. В то же время в клетках гипоталамуса сусликов в состоянии гибернации снижается экспрессия белка Cdc7, участвующего в S-стадии клеточного цикла, в результате чего может происходить p53-независимый некроз клеток.

Важно отметить, что одновременно со снижением экспрессии белка Cdc7 в гипоталамусе гибернирующих сусликов происходит повышение экспрессии катепсина D. Понижение экспрессии и секреции катепсинов, их распределения в клетке и регуляции их активности представляет собой отличительную черту опухолевых клеток. Вероятно, в состоянии гибернации в гипоталамусе сусликов снижается количество дифференцированных клеток, одновременно предотвращается чрезмерный рост слабо дифференцированных нейронов.

Одним из механизмов формирования такого баланса клеточного состава, предположительно, является снижение экспрессии Cdk6, что наблюдали в гипоталамусе гибернирующих сусликов. Известно, что до начала клеточного цикла белок p27, находясь в высокой концентрации, предотвращает активацию протеинкиназ CDK4 или CDK6 циклинами D1, D2 или D3. В таких условиях клетка остается в фазе G0 или ранней фазе G1 до получения митогенного стимула.

При этом в условиях повышения экспрессии катепсина D в гипоталамусе сусликов выявлено и изменения экспрессии Bcl-xL и каспазы-4, что свидетельствует о блокировании процесса апоптоза.

В исследовании Rouble et al. установлено увеличение в мозге гибернирующих животных уровней антиапоптотических факторов (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-1, Mcl-1, cIAP1/2, xIAP), а также увеличение фосфорилирования Bcl-2 в S70 и T56, что, тем не менее, не наблюдается у гомойотермных животных. Изменение экспрессии каспазы-4 также характеризует отличия в развитии ответа нервной ткани на гипоксические процессы, которые развиваются и в состоянии гибернации, у гомойо- и пойкилотермных животных.

## МИКРОФЛЮИДНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ СТОРОЖКОВ И ЛАБОЧИПОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**К.И. Белоусов<sup>1</sup>, А.С. Букатин<sup>2</sup>, И.А. Денисов<sup>2</sup>, А.А. Евстапов<sup>1,3,4</sup>, Е.Н. Есимбекова<sup>2,5</sup>,  
И.В. Кухтевич<sup>2</sup>, К.А. Лукьяненко<sup>2</sup>, В.В. Сорокин<sup>2</sup>, А.С. Якимов<sup>2</sup>, П.И. Белобров<sup>2,5</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 197101, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

<sup>2</sup>Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, 660041, Российская Федерация, г. Красноярск, пр. Свободный, 79

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН, 194021, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8/3

<sup>4</sup>Институт аналитического приборостроения РАН, 198095, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31–33/А

<sup>5</sup>Институт биофизики СО РАН, 660036, Российская Федерация, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50  
E-mail: peter.belobrov@gmail.com; antbuk.fiztek@gmail.com; anatologyevs@gmail.com

В рамках национальной технологической платформы «Медицина будущего» в России формируются биомедицинские кластеры на основе фундаментальной медицины и новых методов биомедицинской диагностики. По нашему мнению, базовыми элементами для формирования комплекса новых диагностических приборов являются отечественные микрофлюидные сторожки (point-of-care devices) и лабочипы (lab-on-a-chip).

Среди множества исследований можно выделить следующие ключевые направления работ, позволяющие в ближайшей перспективе создать прототипы диагностических платформ: а) микрофлюидные устройства для изучения направленной клеточной миграции; б) микрофлюидные чипы для экспериментов *ex vivo* содиночными клетками и тканями; в) микрофлюидные приборы на основе биолюминесцентных методов; д) аналитические системы на основе капельной и цифровой микрофлюидики.

Направленная клеточная миграция играет важную роль в физиологических процессах, таких, например, как защита организма от инфекций и вирусов, заживление ран, характера роста метастазов опухолей. Микрофлюидные устройства позволяют прецизионно конфигурировать и управлять градиентами химических веществ при изучении сложного взаимодействия клеток. В докладе рассмотрены результаты разработки микрофлюидных устройств для изучения влияния градиентов химических веществ на клеточную миграцию и для решения медицинских задач сортировки и выделения определенного типа клеток [1].

Создание микрофлюидных чипов для микроскопических исследований одиночных клеток в условиях *in vitro* дает возможность получить уникальные данные об особенностях поведения отдельных клеток. При использовании микроскопии высокого разрешения важным является фиксация и удержание клеток в специальных ловушках на время эксперимента. В соответствии с разработанной топологией методом фотолитографии были изготовлены микрофлюидные чипы из фоторезиста SU-8. Испытания микрофлюидных чипов показали их работоспособность при фиксации клеток миелоидной лейкемии человека K562 из потока пробы и последующем их изучении методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии [2].

Люциферазные микрофлюидные лабчипы с биологическим модулем «Энзимолум» представляют собой простой и полезный вариант диагностических сторожков для определения качества биологических жидкостей и для биомедицинских датчиков [3].

Модели капельной и цифровой микрофлюидики позволяют точно сформулировать проблему биологической метрологии, основанной на измерении межклеточных взаимодействий и введении биологических мер. Это направление, являясь новым подходом к персональной медицине будущего, в перспективе обеспечит более глубокое понимание фундаментальных биологических констант [4].

Полезным направлением биологического тестирования, которое обеспечивает проведение мультиплексного анализа с высокой чувствительностью и точностью, является совместное использование быстрых измерений люминесценции с усилением сигнала люциферазы наночастицами, с другими более сложными и длительными методами измерений типа электрофореза или масс-спектрометрии [5].

Таким образом, микрофлюидные технологии лежат в основе биомедицинских исследований и будут определять лицо технологической платформы «Медицина будущего».

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кухтевич И.В., Белоусов К.И., Букатин А.С., Евстапов А.А. Топологии микрофлюидных устройств для изучения миграции клеток в градиентах химических веществ // Научное приборостроение. 2015. Т. 25. С. 3–16.
2. Кухтевич И.В., Белоусов К.И., Букатин А.С., Дубина М.В., Евстапов А.А. Микрофлюидный чип с гидродинамическими ловушками для микроскопических исследований одиночных клеток *in vitro* // Письма в ЖТФ. 2015. Т. 41. С. 103–110.
3. Densiov I.A., Yakimov A.S., Lukyanenko K.A., Belobrov P.I. Luciferase-based microfluidic bioassays // *Luminescence*. 2014. Vol. 29. P. 66–67.
4. Zimin A.A., Denisov I.A., Yakimov A.S., Belyanina I.V., Nikiforova V.S., Lukyanenko K.A., Belobrov P.I. Cell-to-cell microfluidic interaction models in the science of health // *Scientific and Practical Journal of Health and Life Sciences*. 2013. Vol. 4. P. 10–18.
5. Belobrov P.I., Denisov I.A., Tumanyan A.G., Esimbekova E.N., Meshajkina L.V., Yakimov A.S., Kratasyuk V.A. Luciferase-based biobarcode amplification assay // *Modern Problems of Radio Engineering, Telecommunications and Computer Science (TCSET)*, Abstract Book of International Conference IEEE. 2010. P. 372.

*Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 15–19–10041).*

---

## ПРИМЕНЕНИЕ ИМПУЛЬСНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ В ЛЕЧЕНИИ НАРУШЕНИЙ КРОВООБРАЩЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

***Д.Е. Брагин, Г.Л. Стэттом, Ш. Хагберг, Э.М. Немото***

*Department of Neurosurgery, the University of New Mexico School of Medicine, Albuquerque, NM, USA, 87131  
E-mail: dbragin@salud.unm.edu; shagberg@salud.unm.edu; enemoto@salud.unm.edu*

Электроцветика – недавно предложенный термин для быстро развивающихся нефармакологических методов, использующих электрическую или магнитную стимуляцию в лечении патологий [1]. Один из таких методов, основанный на неинвазивном воздействии высокочастотных импульсных электромагнитных полей (ИЭМП), получил клиническую сертификацию в США и используется при лечении переломов костей, повреждений мягких тканей, посттравматических воспалений и отеков. Лабораторные исследования показали, что воздействие ИЭМП вызывает небольшие электрические токи в тканях, способствующие росту эндотелиальных клеток и об-

разованию новых сосудов, влияет на некоторые компоненты внутри и межклеточного сигналинга и усиливает кровообращение в мягких тканях [2]. Относительно недавно ИЭМП-терапия предложена для использования в клинической неврологии и реабилитации. Однако недостаток понимания механизмов действия ИЭМП ограничивает его применение и требует дальнейших исследований.

В предыдущих работах мы показали, что в здоровом головном мозге крыс ИЭМП вызывает дилатацию церебральных сосудов, ведущую к увеличению объема и скорости микроциркуляции крови, а следовательно, к повышению концентрации кислорода в тканях мозга [3]. Триггером дилатации является оксид азота, активация синтеза которого под действием ИЭМП была показана на первичных культурах нейронов [4] и подтверждена нами *in vivo* [3]. В данной работе мы исследовали влияние ИЭМП на микроциркуляцию, метаболизм и выживаемость нейронов при нарушении мозгового кровообращения вследствие внутричерепной гипертензии (ВЧГ) или черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

В исследовании использовались четыре группы крыс линии Спрег-Доули (250–300 г, по 10 крыс в каждой): 1) ВЧГ с последующей ИЭМП-терапией; 2) ВЧГ без ИЭМП (контроль); 3) ЧМТ с ИЭМП; 4) ЧМТ без ИЭМП (контроль). Прижизненная двухфотонная лазерная сканирующая микроскопия была использована для изучения влияния ИЭМП на микроциркуляцию крови (line scans), тонус микрососудов, насыщение ткани кислородом (автофлуоресценция никотинамидадениндинуклеотида, NADH), проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и гибель нейронов в коре головного мозга наркотизированных крыс в течение четырех часов после травмы. Для измерения скорости микроциркуляции крови, тонуса сосудов и проницаемости ГЭБ плазма крови метилась тетраметилпродамин декстраном. Для подсчета некроза нейронов пропидиум йодид вводился внутривенно. Температура мозга и тела, артериальное и внутричерепное давление и мозговой кровоток (Допплер) непрерывно наблюдались; газовый состав, электролиты, и гематокрит крови определялись ежечасно. Для индукции внутричерепной гипертензии, нормальное внутричерепное давление = 10 мм. рт. ст. повышалось до 30 мм. рт. ст. позиционированием резервуара с искусственной цереброспинальной жидкостью, соединенного с *cisterna magna*. Черепно-мозговая травма наносилась методом жидкостной перкуссии (fluid-percussion brain injury, импульс 1,5 атм., 50 мс.). ИЭМП-терапия (15 минут) проводилась сразу после записи нормальных физиологических параметров и последующей травмы/повышения ВЧГ при помощи US FDA сертифицированного прибора Sofpulse (Ivivi Health Sciences, LTD). В контрольной группе животных ИЭМП-терапия не проводилась. Неврологический дефицит у крыс с ЧМТ был оценен через неделю после травмы при помощи Rotarod теста.

Для статистического анализа использовался t-тест Стьюдента или Холмогорова-Смирнова. Различия между группами определяли с помощью двух-дисперсионного анализа (ANOVA) для множественных сравнений и постфактум испытаний с использованием U-теста Манна-Уитни. Бонферрони-тест был использован во вторичном анализе для сравнения влияния различных групп. Уровень значимости был выставлен на  $p < 0,05$ , данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка.

Как и в наших предыдущих исследованиях [5, 6], повышение ВЧД нарушало капиллярное кровообращение и направляло кровоток в патологические микрошунты, что сопровождалось гипоксией, отеком, повреждением ГЭБ и гибелью нейронов, которые прогрессировали с течением времени в мозге не подвергшихся ИЭМП животных. ИЭМП значительно замедляло прогрессию патологического микрососудистого шунтирования в сравнении с контрольными животными ( $\tau = 2,3 \pm 1,1$  % и  $3,8 \pm 2,1$  %, соответственно,  $p < 0,05$ ). Это коррелировало с расширением артериол ( $+ 4,5 \pm 3,2$  %) и увеличением скорости кровотока в капиллярах ( $+ 4,7 \pm 3,2$  %) после ИЭМП-воздействия. Улучшение микроциркуляции снижало тканевую гипоксию, согласно более низкой по сравнению с контрольными животными флуоресценции NADH ( $\Delta = -14,6 \pm 3,7$  %,  $p < 0,05$ ), и гибель нервных клеток (приопидиум йодид позитивных нейронов в ИЭМП группе было на  $38,2 \pm 9,6$  % меньше,  $p < 0,05$ ). При этом повреждение ГЭБ также было ниже, чем в мозге контрольных животных на  $17,2 \pm 5,4$  % ( $p < 0,05$ ). Подобным же образом ИЭМП-воздействие восстанавливало

циркуляцию крови в капиллярах ( $+ 24,3 \pm 6,2 \%$ ), снижало гипоксию на  $31,2 \pm 7,3 \%$ , повреждение ГЭБ на  $43,2 \pm 16,3 \%$  и некроз нейронов на  $39,6 \pm 7,7 \%$  в сравнении с мозгом животных, не подвергавшихся ИЭМП. Rotarod-тест, проведенный через неделю после травмы показал, что животные с ЧМТ, подвергшиеся ИЭМП-терапии, лучше восстановили сенсорно-моторные функции, так как латентное время на ускоряющем вращение барабане было на  $35,4 \pm 6,1 \%$  больше, чем у животных, не подвергавшихся ИЭМП ( $p < 0,05$ ).

ИЭМП, генерируемое прибором Sofpulse, модулирует топографию микроциркуляции крови, снижает тканевую гипоксию, дегенерацию ГЭБ и гибель нейронов при внутричерепной гипертензии и ЧМТ в головном мозге крыс. Эффект ИЭМП-воздействия транслируется в существенное улучшение неврологических показателей. Результаты показывают, что лечение ИЭМП может быть эффективным дополнением для интенсивной и реабилитационной терапии пациентов с нарушениями церебрального кровообращения после травматических или ишемических повреждений головного мозга.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Famm K., Litt B., Tracey K.J., Boyden E.S., and Slaoui M. Drug discovery: a jump-start for electroceuticals // Nature. 2013. Vol. 496. P. 159–161.
2. Pilla A.A. Nonthermal electromagnetic fields: from first messenger to therapeutic applications // Electromagnetic Biology and Medicine. 2013. Vol. 32. P. 123–136.
3. Bragin D.E., Statom G.S., Hagberg S., Nemoto E.M. Increases in microvascular perfusion and tissue oxygenation via pulsed electromagnetic fields in the healthy rat brain // Journal of Neurosurgery. 2015. Vol. 122(5). P. 1239–1247.
4. Pilla A.A. Electromagnetic fields instantaneously modulate nitric oxide signaling in challenged biological systems // Biochemical & Biophysical Research Communications. 2012. Vol. 426. P. 330–333.
5. Bragin D.E., Bush R.C., Mueller W.S., Nemoto E.M. High intracranial pressure effects on cerebral cortical microvascular flow in rats // Journal of Neurotrauma. 2011. Vol. 28(5). P. 775–785.
6. Bragin D.E., Bush R.C., Nemoto E.M. Effect of cerebral perfusion pressure on cerebral cortical microvascular shunting at high intracranial pressure in rats // Stroke. 2013. Vol. 44(1). P. 177–181.

---

## ПРИБОРЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

*И.В. Гавриленкова*

*Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова  
Минздрава РФ, 127473, Российская Федерация, г. Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1  
E-mail: IrinaGavrilenkova@yandex.ru*

Томограф (томографический сканер) – современный прибор для визуализации медицинских исследований. Внедрение данного технического устройства в практику современного врача ставит новые задачи обучения физике в учебных организациях медицинского образования. Наше исследование показало, что работа будущих специалистов с высокотехнологичной медицинской техникой опирается на физические знания и умение решать задачи, связанные с передачей и обработкой медико-биологической информации.

Теоретические основы таких «общефизических сведений» в литературе имеются [1], однако методика овладения обучаемыми новыми видами деятельности не разработана. Мы полагаем, что обучение студентов физике на основе продуктивно-деятельностного подхода к изучению этих вопросов позволит подготовить медицинских работников к эффективному решению профессиональных задач с применением средств визуализации. С этой целью был разработан курс «Физические основы визуализации медицинских исследований».

Для изучения физических способов получения изображения биологических объектов техническими устройствами разного типа мы ввели следующие понятия:

визуальная информация – сведения об окружающем мире и протекающих в нем процессах, воспринимаемых человеком посредством зрения;

источник информации – любой материальный объект, который производит информацию;

знаковая форма информации – способ выражения на материальном носителе содержания передаваемой информации;

материальный носитель – материальный объект, на котором помещается информация.

При этом учитываем, что содержание информации не должно изменяться при передаче и (или) обработке информации.

Приведем пример. Покажем ситуации, в которых возникает потребность в создании и передаче КТ – изображении:

необходимо исключить потенциально серьезный диагноз в группах риска;

необходимо осуществить срочную диагностику по экстренным показаниям;

требуется в плановом порядке окончательно подтвердить диагноз;

необходимо проконтролировать результаты лечения;

требуется осуществить лечебные или диагностические манипуляции.

Обучение студентов разработке методов решения выделенных ситуаций осуществляется через исследовательскую работу над сформулированными собственными задачами по созданию, передаче и обработке медицинской информации методом томографии.

Опорой в разработке таких проектов служат физические знания о том, что томограф является сложным техническим устройством, который позволяет получить четкие изображения любой части человеческого тела, включая мягкие ткани органов, а томография – метод рентгенологического исследования, с помощью которого возможно производить снимок слоя, лежащего на определенной глубине исследуемого объекта. Основным инструментом для построения диагностики в компьютерной томографии служит шкала Хаунсфилда.

Далее в докладе рассматриваются вопросы овладения деятельностью по изучению физических основ получения изображений в курсе «Физические основы визуализации медицинских исследований».

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Календер В. Компьютерная томография. Основы, техника, качество изображений и области клинического использования М.: Техносфера, 2006. 344 с.

---

## ПРАКТИКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОНЦЕПТУАЛЬНЫХ СПЕЦИФИКАЦИЙ В МЕДИЦИНСКОМ ПРИБОРОСТРОЕНИИ

*В.В. Горюнова, Т.И. Горюнова*

*Пензенский государственный технологический университет, 440039, Российская Федерация,  
г. Пенза, ул. Гагарина, 11-а*

*E-mail: gvv17@ya.ru*

Использование концептуальных спецификаций (онтологии) предполагает разработку формальных и визуально-графических средств реализации следующих важных задач [1–7]:

Обозначение целей и области применения создаваемой онтологии.

Построение онтологии, которое включает: а) фиксирование знаний о проблемной области (ПрО), т. е. определение основных понятий и их взаимоотношений в выбранной проблемной области; создание точных непротиворечивых определений для каждого основного понятия



и отношения; определение терминов, которые связаны с этими терминами и отношениями; б) кодирование, т. е. разделение совокупности основных терминов, используемых в онтологии, на отдельные классы понятий; в) выбор или разработку формальных средств (специальных языков для представления онтологии); г) непосредственно задание фиксированной концептуализации на выбранном языке представления знаний.

Совместное применение пользователями (исполнителями) общего понимания структуры интеллектуальной медицинской информационной системы (ИМИС).

Обеспечение возможности использования знаний проблемной области (ПрО).

Создание явных допущений в ПрО, лежащих в основе реализации.

Отделение знаний ПрО от оперативных знаний.

В основе онтологического анализа лежит описание проблемной области организации или предприятия медицинского приборостроения, в частности, в терминах сущностей, отношений между ними и преобразование сущностей, которое выполняется в процессе решения определенной задачи.

Онтологический инжиниринг подразумевает глубокий структурный анализ проблемной области. Простейший алгоритм онтологического инжиниринга может быть представлен следующими составляющими:

- выделение концептов – базовых понятий данной проблемной области;
- определение «высоты дерева онтологий» – количество уровней абстракции;
- распределение концептов по уровням;
- построение связей между концептами – определение отношений и взаимодействий базовых понятий;
- консультации с различными специалистами для исключения противоречий и неточностей.

Онтологический анализ обычно начинается с составления словаря терминов, который используется при обсуждении и исследовании характеристик объектов и процессов, составляющих рассматриваемую систему, а также создания системы точных определений этих терминов. Кроме того, документируются основные логические взаимосвязи между соответствующими введенным терминам понятиями. Результатом этого анализа является словарь терминов, точных их определений и взаимосвязей между ними. Таким образом, онтология содержит совокупность терминов и правила, согласно которым эти термины могут быть скомбинированы для построения достоверных утверждений о состоянии рассматриваемой системы в некоторый момент времени. Кроме того, на основе этих утверждений могут быть сделаны соответствующие выводы, позволяющие вносить изменения в систему для повышения эффективности ее функционирования.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Горюнова В.В. Онтологический подход к проектированию систем технического обслуживания // Автоматизация и современные технологии. 2009. № 12. С. 24–29.
2. Горюнова В.В. Анализ эксплуатационно-технологических процессов с применением модульной системной онтологии // Вестник Казанского государственного технического университета им. А.Н. Туполева. 2011. № 1. С. 97–102.
3. Горюнова В.В., Горюнова Т.И., Жиляев П.С. Особенности проектирования интегрированных медицинских систем на основе концептуальных спецификаций // Фундаментальные исследования. 2013. № 11 (9). С. 67–73.
4. Горюнова В.В., Горюнова Т.И., Кухтевич И.И. Основные тенденции в развитии медицинских информационных систем // Фундаментальные исследования. 2015. № 5(1). С. 58–62.
5. Горюнова В.В., Горюнова Т.И., Кухтевич И.И. Практика проектирования и использования телеконсультационных центров неврологического профиля // Фундаментальные исследования. 2014. № 11(11). С. 2365–2369.
6. Горюнова В.В., Горюнова Т.И., Жиляев П.С. Многоуровневые структуры интегрированных медицинских систем // Современные наукоемкие технологии. 2014. № 5(1). С. 122.
7. Жиляев П.С., Горюнова Т.И. Организация телемедицинской системы Пензенской области // Современные наукоемкие технологии. 2014. № 5(1). С. 127.

# ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ С ЭФФЕКТОМ ПАМЯТИ ФОРМЫ В ЗАЩИТНОЙ ПОВЯЗКЕ ДЛЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ

*А.Е. Пономарев, О.В. Денисов*

*Донской государственный технический университет, 344000, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1  
E-mail: ae\_ponomarev@mail.ru*

Для профессий, связанных с повышенным риском травматизма, на рабочем месте весьма высока вероятность получения травмы крупного сустава. Описано, что при прыжках и падениях в момент приземления на человека действуют силы, почти в пять раз превышающие его вес [1, 2]. Скручивание в коленном суставе или падение во время неправильного приземления может привести к микро- и макротравмам коленного сустава и дальнейшему развитию патологии со снижением трудоспособности и качества жизни [2]. Среди защитных средств, успешно применяющихся для профилактики травм и заболеваний крупных суставов, необходимо отметить наколенники [3]. Однако в настоящий момент использование таких защитных средств не распространено для широкого применения (за исключением спортсменов), практически отсутствуют устройства для защиты крупных суставов для обязательного использования в профессиях, связанных с повышенным риском травматизма, недостаточно используются инновационные материалы повышенной эффективности и степени защиты [1]. Анализ отечественных инновационных решений, описывающих противоударные приспособления [4, 5] показал, что известно большое количество таких приспособлений, основанных на упругих эластичных элементах, в качестве которых часто применяют пластинчатые материалы, упругие эластичные бандажи, мягкие фасонные детали, выполненные в виде эластичного деформируемого элемента из геля и/или мягкого полиуретана.

Очевидным направлением работы, таким образом, является уменьшение габаритных размеров таких устройств при сохранении их энергопоглощательной способности. Технический результат может быть достигнут применением инновационных технических решений. При этом политика XXI века диктует необходимость применения в таких областях материалов, способных деформироваться в упругой и пластической областях, а затем восстанавливать исходную форму. Такими материалами являются сплавы с эффектом памяти формы. В связи с этим логичным является использование в инновационном противоударном приспособлении в качестве упруго-пластического материала эквиаомного титано-никелевого сплава, который обладает приемлемой температурой фазовых переходов, необходимых для восстановления формы. В качестве опытной модели первого приближения было принято противоударное приспособление, имеющее в своем составе бандаж в виде спиралей из упруго-пластического материала с эффектом памяти формы и с электрическими контактами на концах. Данное решение позволяет при ударах пластически деформироваться с поглощением энергии удара, а затем восстанавливать исходную форму, в том числе за счет нагрева электрическим током. Особенности нагрева электрическим током: противоударное приспособление в опыте было снабжено электроконтактным нагревателем, соединенным с электрическими контактами спирали, и подключенным к источнику питания постоянного тока. Спираль опытной модели противоударного приспособления по всей длине интегрирована в эластичный деформируемый стержневой элемент из мягкого полиуретана, что позволяет осуществить относительную фиксацию спирали в устройстве, обеспечить требуемое расстояние между витками спирали, а также участвовать в поглощении энергии удара.

Таким образом, предлагаемое приспособление защиты крупных суставов при уменьшении габаритов (5 мм вместо 20–30 мм аналога) позволяет эффективно защитить человека от травм и может применяться в сфере охраны труда для снижения травматизма при ударах или толчках.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Давиденко В.Н., Пономарева И.А., Инжинов А.Ю. К вопросу о безопасности тренировок и профилактике травматизма при занятиях волейболом // Физическая культура, спорт, здоровье и долголетие: Сборник мат-лов Третьей Всерос. с международным участием науч.-практ. конф. Ростов н/Д: ЮФУ, 2014. С. 36–42.

2. Денисов О.В., Пономарева И.А., Зименко В.А. Защитная повязка для крупных суставов при занятиях спортом // Новые стандарты модернизации педагогического образования в формировании здорового образа жизни и безопасности жизнедеятельности: Мат-лы III регион. науч.-практ. конф. Южного федерального округа. Краснодар: ИПЦ КубГУ, 2015. С.90–92.

3. Орлова Е.В., Каратеев Д.Е., Кочетков А.В. Комплексная реабилитация больных ранним ревматоидным артритом // Научно-практическая ревматология. 2013. № 4. (51). С. 398–406.

4. Патент: Наколенник: патент РФ на изобретение № 2425658, МПК А61F5/01; заявл. 13.01.2010; опубл. 10.08.2011.

5. Патент: Наколенник для защиты колена человека: патент РФ на изобретение № 2308373, МПК В29С44/12, А41D13/06; заявл. 29.11.2002; опубл. 03.07.2003.

## GENETIC VARIABILITY OF IMMUNE SYSTEM, NEUROPLASTICITY, AND APOPTOSIS IN SCHIZOPHRENIA

***Roksana Zakharyan, Sofi Atshemyan, Andranik Chavushyan, Anna Boyajyan***

*Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences of Armenia (Yerevan, Armenia), 7  
Hasratyan St., Yerevan, Armenia, 0014*

*Email: r\_zakharyan@mb.sci.am*

The overall prevalence and the burden/costs of psychiatric disorders are high all over the world. However, it should be taken into account that the overall, personal, social, and economic costs of these disorders have been underestimated because of the lack of reliable information concerning the full set of psychosocial difficulties that actually shape the lived experience of persons with these disorders and affect their quality of life. Schizophrenia (SCZ, ICD10 code: F20; DSMV code: 295) is a severe mental disorders with a strong genetic component. According to data provided by the World Health Organization (WHO), this disease affects around 26 million people worldwide and results in moderate or severe disability in 60 % of cases. Currently, more than 50 % of persons with SCZ are not receiving appropriate care and 90 % of people with untreated SCZ are in developing countries. Despite a large number of studies aimed at the investigation and characterization of the molecular bases of the SCZ etiopathogenesis and growing amount of information about disease-related candidate genes, the specific biomarkers of this pathology are still unknown. A number of studies, including our own, suggest that SCZ is characterized by dysfunction of the immune system manifested by development of autoimmune and inflammatory reactions at both central nervous system and systemic levels. Also, the involvement of aberrant apoptosis and altered synaptic plasticity has been proposed. However, the molecular pathomechanisms of these alterations are poorly studied yet and immune response alterations in SCZ are still unclear and the available data are controversial and population-dependent. The overall aim of this study is to evaluate the potential association of genetic variants of immune system proteins, apoptotic marker, and synaptic plasticity regulators in SCZ-affected patients and healthy volunteers. Namely, our attention was focused on complement system, cytokine network, apoptotic marker, and neurotrophins. The methodology includes polymerase chain reaction with allele specific primers (PCR-SSP) and quantitative real-time PCR. According to the data obtained, the rs291982\*G mutant allele of the *C1QB* gene might be considered as a risk factor for this disease because *C1QB* gene polymorphism was found more frequently in SCZ patients than in controls. The same tendency was found for the rs1800795\*C, rs1800629\*A, rs1024611\*G, rs11575945\*T, rs1366116\*A, and rs7101\*T alleles of the *IL-6*, *TNF- $\alpha$* , *MCP-1*, *ANXA5*, *CPLX2*, and *FOS* genes, respectively, that were nominated as risk factors for this disease. In contrast, the *CPLX2* gene rs3892909\*C, *FOS* gene rs1063169\*T, *JUN* gene rs11688\*A, and *IER5* gene rs6425663\*T alleles were overrepresented in the group of controls, and, therefore, might have a protective role against this disease. As the results obtained are mostly described for the first time in any population, further studies in other ethnic groups are needed to confirm these findings that can be used for the development of new diagnostic approaches based on the identification of molecular biomarkers. This work was supported by the RA MES State Committee of Science, in the frames of the research project № 13–1F126 (2013–2015).

# ИССЛЕДОВАНИЕ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ У МУЖЧИН РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

*А.А. Александрова<sup>1</sup>, А.В. Долгушина<sup>1</sup>, И.Ю. Щеглова<sup>2</sup>, А.А. Степанова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

<sup>2</sup>Клинико-диагностическая лаборатория «Наука», 343034, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Загорская, 23а

E-mail: aalexandrova@mail.ru

Одной из важных причин проблемы мужского бесплодия человека, которой занимаются последнее десятилетие, является фрагментация ДНК сперматозоидов. Фрагментация ДНК, представляющая собой одно- и двухцепочечные разрывы молекулы ДНК, является новым показателем оценки качества эякулята, так как во многих исследованиях обнаружено, что высокий процент повреждений ДНК в сперматозоидах негативно влияет на частоту наступления беременности. На сегодня установлено, что у мужчин с повышенной концентрацией сперматозоидов, несущих фрагментированную ДНК, наблюдается идиопатическое бесплодие, которое составляет 31 % от общего числа факторов, приводящих к мужскому бесплодию.

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось исследование уровня фрагментации ДНК сперматозоидов в зависимости от возраста мужчин.

Материалом исследования послужили образцы эякулята 110 мужчин, проходивших обследование в медицинских центрах города Ростова-на-Дону. Стандартные общеклинические исследования проводились согласно рекомендации ВОЗ (2010) с использованием автоматического спермоанализатора SQA-V (Австрия-Израиль) ЦКП «Высокие технологии». Исследование фрагментации ДНК сперматозоидов человека проводилось с помощью метода HALO с использованием набора реагентов Halosperm (Halosperm DNA, Испания). Подсчет сперматозоидов с фрагментированной ДНК осуществляли посредством светового микроскопа Axioskop 40 (Zeiss, Германия). Статистическая обработка полученных результатов была проведена с помощью программы «Биостат» с использованием критерия Стьюдента (t), критерия согласия относительно долей. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

В результате проведенных исследований фрагментации ДНК сперматозоидов установлено, что с возрастом количество нормальных сперматозоидов у мужчин снижается, а количество сперматозоидов с фрагментированной ДНК увеличивается. С изменениями общеклинических показателей эякулята (снижение общего количества сперматозоидов, активно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов) увеличивается количество сперматозоидов с фрагментированной ДНК, а также деградированных сперматозоидов. Процент мужчин с нормальными значениями показателей спермограммы и фрагментации ДНК сперматозоидов с возрастом уменьшается. Выявлена зависимость морфологии сперматозоидов и фрагментации ДНК. При тератозооспермии наблюдалась высокая фрагментация ДНК сперматозоидов. Анализ индекса фрагментации ДНК в зависимости от возраста показал, что количество мужчин с низким индексом с возрастом снижается.

*Исследования выполнены в рамках НИР № 1878 базовой части госзадания Министерства образования и науки РФ «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».*

# ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ НИТРОЗИЛЬНОГО СТРЕССА У КРЫС ПРИ ТРАВМЕ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

*И.А. Аллилуев<sup>1</sup>, Л.В. Беляева<sup>1</sup>, Е.М. Вечканов<sup>1</sup>, И.А. Сорокина<sup>1</sup>,  
И.И. Кузнецов<sup>2</sup>, В.В. Внуков<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Ростовский государственный медицинский университет, 344022, Российская Федерация, г.Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29  
E-mail: emvechkanov@srfedu.ru

Травма и оперативные вмешательства часто приводят к тяжелым нарушениям функционального состояния системы гемостаза, которые реализуются в виде тромботических осложнений, играющих значительную роль в возникновении, течении и исходах основного заболевания [1]. Фактором дисфункции эндотелия, приводящего к тромбозу, является длительно выраженная гипергомоцистеинемия, лежащая в основе развития оксидативно-нитрозильного стресса [2, 3]. Ключевую роль в механизмах нитрозильного стресса играет окись азота (NO), метаболические пути которого теснейшим образом связаны с деятельностью ферментов – NO-синтаз и аргиназ. Таким образом, целью настоящей работы явилось изучение механизмов метаболизма NO путём определения уровня метаболитов NO-нитритов и активности аргиназ.

Эксперименты проводились на 64 белых крысах-самцах массой 250–300 г в возрасте 6 месяцев с учетом этических принципов экспериментирования на животных моделях. Индукцию гипергомоцистеинемии у крыс осуществляли путем ежедневного введения 1 %-ного раствора метионина в дистиллированной воде из расчета 0,12 г метионина в сутки на крысу [4]. С целью формирования однотипных закрытых переломов костей голени под наркозом производилась травматизация задней конечности крысы [5]. Животные были рандомизированы в 4 группы: I группа ( $n=8$ ) – контроль; II группа ( $n=24$ ) – опытная, животным формировали закрытый перелом костей голени и выводили из эксперимента через 3, 7 и 14 дней; III группа ( $n=8$ ) – опытная, животным в течение семи недель ежедневно вводили метионин, после чего выводили из эксперимента; IV группа ( $n=24$ ) – опытная, животным в течение шести недель ежедневно вводили метионин, затем формировали закрытый перелом костей голени, продолжая вводить метионин, и выводили из эксперимента через 3, 7 и 14 дней. В качестве биологического материала использовалась плазма крови, гомогенаты сердечной мышцы и печени. Ткани сердечной мышцы и печени гомогенизировали в 10-кратном объёме 50 мм Tris-HCl буфера pH 7,35 на холоде. Количественное определение нитритов проводили по Голикову и Николаевой [6]. Об активности аргиназы судили по приросту мочевины по реакции с диацетилмонооксимом [7]. Для оценки статистически значимых различий между сравниваемыми группами использовали параметрический критерий Стьюдента. Разницу средних величин считали достоверной при  $p<0,05$ .

В ходе эксперимента было обнаружено, что во II, III и IV группах экспериментальных животных уровень нитритов в плазме крови достоверно увеличился в среднем на 51 %, 81 и 111 % по сравнению с контрольной группой, соответственно. Содержание мочевины в плазме крови экспериментальных животных находилось в референсных значениях нормы. Был также выявлен повышенный уровень активности аргиназы в гомогенате сердечной мышцы во II, III и IV группе на 57 %, 119 и 115 % и в гомогенате печени на 47 %, 58, 42 % выше контрольной группы, соответственно. Таким образом, нами показаны изменения в метаболизме NO в тканях крыс в условиях травмы и на фоне гипергомоцистеинемии: активизация аргиназного пути метаболизма L-аргинина и изменение пулов нитрита. Показанные изменения, по всей видимости, лежат в основе развития эндотелиальной дисфункции у животных на фоне развивающегося оксидативного стресса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Варданян А.В., Мумладзе Р.Б., Белоусов Д.Ю., Ройтман Е.В. Клинико-экономический анализ профилактики послеоперационных венозных тромбоэмболических осложнений // Качественная клиническая практика. 2006. № 1. С. 51–63.
2. Tousoulis D., Bouras G., Antoniadou C. The activation of endothelin-1 pathway during methionine-induced homocysteinemia mediates endothelial dysfunction in hypertensive individuals // J. Hypertens. 2010. Vol. 28. № 5. P. 925–930.
3. Tyagi N., Sedoris K.S., Ovechkin A.V. et al. Mechanisms of homocysteine-induced oxidant stress // Am. J. Physiol. Heart Circ. 2005. Vol. 289. P. 2649–2656.
4. Sanjana Dayal and Steven R. Lentz. Murine Models of Hyperhomocysteinemia and their Vascular Phenotypes // Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008 September. Vol. 28(9). P. 1596–1605.
5. Березовский Д.П., Мажугин В.Ю., Кураян К.М., Кураян М.Б., Крайнова Н.Н., Хабарова О.В., Варавва Т.А., Корниенко И.В. Экспериментальная модель умеренной гипергомоцистеинемии для изучения патогенеза тромботических осложнений при травме опорно-двигательного аппарата // Кубанский научный медицинский вестник. 2011. № 5. С. 21–24.
6. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Метод определения нитрита/нитрата (NOx) в сыворотке крови // Биомедицинская химия. 2004. Т. 50. С. 79–85.
7. Камышников В.С., Волотовская О.А., Ходюкова А.Б. и др. Методы клинических исследований. 6-е изд., перераб. М.: МЕДпресс-информ, 2013.

---

## АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *PAH* У БОЛЬНЫХ ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

***М.А. Амелина*<sup>1</sup>, *А.А. Степанова*<sup>2</sup>, *А.В. Поляков*<sup>2</sup>, *С.С. Амелина*<sup>1,3</sup>, *Р.А. Зинченко*<sup>2,4,5</sup>**

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Медико-генетический научный центр, 115478, Российская Федерация, г. Москва, ул. Москворечье, 1

<sup>3</sup>Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

<sup>4</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Островитянова, 1

<sup>5</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ, 127473, Российская Федерация, г. Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

E-mail: samelina@mail.ru

В ходе обследования больных фенилкетонурией (ФКУ), проживающих в Ростовской области (РО), проведен анализ мутаций в гене *PAH* с учетом национальности пациентов. В настоящее время в регистре наследственных заболеваний РО зарегистрировано 229 больных ФКУ. ДНК-исследование мутаций в гене *PAH* проведено 130 пациентам. В этническом отношении выборка больных в основном представлена русским населением 73,1 % (95 больных). Выявлены также больные других национальностей: турки (3,85 %), армяне (3,85 %), даргинцы (1,54 %), евреи (0,77 %). Моноэтнические браки в семьях больных ФКУ составили 83,1 %, межнациональные – 16,9 %. Среди последних преобладали пациенты, рожденные в семьях русская-украинец (6,15 %), русская-армянин (1,54 %), одна семья представлена украинкой-татариним (0,77 %).

В результате проведенной ДНК-диагностики 130 пациентам с использованием методов ПЦР, секвенирования и MLPA, выявлено 40 мутаций в гене *PAH*. Диагностическая эффективность составила 100 %.

Из 40 зарегистрированных мутаций у больных ФКУ, проживающих в РО, среди русского населения выявлено 28 мутаций (95 больных). Анализ группы русских пациентов с ФКУ показал, что «мажорной мутацией» является R408W, частота которой в данной группе составила 69,47 % (50,77 % во всей выборке обследованных больных). В гомозиготном состоянии мутация R408W вы-

явлена у 50 больных (52,63 %). Второй по частоте (4,74 %) определена мутация IVS12+1G>A (3,46 % во всей выборке). Реже встречаются мутации R261Q (3,68 % в группе русских / 2,69 % во всей выборке), R158Q (3,16 % / 2,31), P281L (2,11 % / 1,54 %). Мутации R252W и L48S выявлены на трех хромосомах каждая и встречаются с одинаковой частотой (1,58 % / 1,15 %). Мутации A300S, EX5del, IVS4+5G>T, IVS10-3C>T, R297H выявлены с одинаково низкой частотой (по 1,05 % / 0,77 %). Остальные 16 мутаций представлены единичными компаунд гетерозиготами (частота 0,53 % / 0,38 %).

В семьях больных ФКУ армянской национальности (5 пациентов / 10 хромосом) выявлены генотипы: R252W/IVS10-11G>A (2 больных), F39del/IVS10-11G>A (1 больной), K363>Nfs/IVS10-11G>A (1 больной), P281L/R261Q (1 больной). Наиболее частыми оказались мутации IVS10-11G>A (1,54 % от общей выборки) и R252W (0,77 %), выявленные на 4 и 2 хромосомах, соответственно. Мутации F39del, K363>Nfs, P281L, R261Q обнаруженные с одинаковой частотой (по 0,38 %), встретившись на 1 хромосоме каждая.

У турок-месхетинцев определены генотипы: R408W/R408W (2 больных), IVS10-11G>A / IVS10-11G>A (2 больных), E390G/IVS11+1G>C (1 больной). С одинаковой частотой по 1,54 % выявлены мутации R408W и IVS10-11G>A. Мутации E390G и IVS11+1G>C выявлены в единичных случаях у 1 больного.

У двух пациентов (генотипы R261X/R261X, R261X/R261Q), даргинцев по национальности, наиболее частой выявлена мутация R261X (1,15 %), которая определена на 3 из 4 хромосомах. Мутация R261Q (с частотой 0,38 %) обнаружена у одного больного в компаунд гетерозиготном варианте с мутацией R261X.

Единственная больная в многодетной еврейской семье является носителем мутации R408W (0,77 %) в гомозиготном состоянии.

В межнациональных семьях наиболее частой является мутация R408W, которая составила 9,20 %. Хотелось бы отметить, что наиболее часто мутация R408W (4,62 %) встречается в браке между русской и украинцем (выявлены на 10 хромосомах у 5 больных в гомозиготном состоянии и у двух больных в гетерозиготном состоянии на 2 хромосомах). С частотой 1,15 % и 0,76 % от общего числа обследованных больных обнаружены мутации EX5del и P281L, соответственно. Другие мутации встречаются в единичных вариантах и в общей сложности составляют 4,94 %.

Полученные в ходе данного исследования результаты позволили оценить спектр и частоту встречаемости мутаций в гене *PAH* у больных ФКУ в РО. Показано, что, как и в большинстве регионов России, «мажорной» является мутация R408W (62,31 %). К другими частым мутациям, составляющим «ядро» мутаций у больных ФКУ в РО, относятся IVS10-11G>A (3,85 %), IVS12+1G>A (3,85 %), R261Q (2,69 %), P281L (2,69 %), R158Q (2,69 %), EX5del (1,92 %), R252W (1,92 %). Данные результаты можно использовать для оптимизации помощи семьям с больными ФКУ в РО, и, прежде всего, для проведения пренатальной диагностики. Также при проведении ДНК диагностики в гене *PAH* необходимо учитывать национальность для подтверждения диагноза и прогноза течения заболевания.

---

## СИСТЕМА АРГИНАЗА–МОЧЕВИНА В ПАТОГЕНЕЗЕ ГОНАРТРОЗА

*А.А. Ананян<sup>1</sup>, Ю. Азаренкова<sup>1</sup>, В. А. Дзряян<sup>1</sup>, А.А. Плотников<sup>1</sup>,  
Н.П. Милютин<sup>1</sup>, И.В. Кроливец<sup>2</sup>, В.В. Внуков<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Ростовский государственный медицинский университет, 344022, Российская Федерация, г.Ростов-на-Дону, пр. Нахичеванский, 29

E-mail: [aaananyan@sfedu.ru](mailto:aaananyan@sfedu.ru)

Гонартроз – хроническое прогрессирующее заболевание коленного сустава, характеризующееся первичной дегенерацией суставного хряща с последующим изменением субхондральной



кости, развитием краевых остеофитов и реактивным синовитом, одно из самых распространенных заболеваний в современной истории человеческой популяции.

В патогенезе гонартроза ведущим фактором является возникновение воспалительной реакции, неотъемлемым компонентом которой является развитие окислительного стресса, вызывающего нарушение метаболизма соединительной ткани и дегенеративные изменения хряща.

Известно, что воспаление сопровождается синтезом медиаторов воспаления, к которым относят биогенные амины, нейромедиаторы, нейропептиды, цитокины (интерлейкины 1,2,6,8, ФНО $\alpha$  и др.), множество секретируемых лейкоцитами агентов, а также оксид азота, производные липидов (липидные медиаторы), нуклеотиды и нуклеозиды. В публикациях последних лет показано влияние этих регуляторов на активность аргиназы, как *in vitro* в культуре клеток, так и *in vivo* в крови пациентов при хирургических вмешательствах. Рядом авторов представлены убедительные доказательства экспрессии аргиназы 1 в гранулоцитах пациентов с травмой.

В данном исследовании показано, что в эритроцитах преобладает аргиназа 1-го типа. Так, у доноров (15 человек) активность аргиназы 1-го типа, определяемая при pH 9,5 в 2 раза выше, чем активность аргиназы 2-го типа с оптимумом pH 7,5.

У 62-х обследованных больных гонартрозом активность аргиназы в эритроцитах возрастает и при pH 7,5 и при pH 9,5 на 67 и 23 %, соответственно, а содержание мочевины – на 56 %, по сравнению с донорами.

Можно предположить, что при гонартрозе также происходит экспрессия аргиназы 1-го и 2-го типа. Наиболее выразительная активация фермента отмечена при pH 7,5, оптимальном для индуцибельной аргиназы 2-го типа. Кроме того, отмечено повышение активности фермента при pH 9,5 – оптимальной для конститутивной аргиназы 1-го типа.

С другой стороны, активация семейства аргиназ может быть вызвана разрушением белков хрящевой ткани, в которой содержится высокий процент (4,45 %) аминокислоты аргинина – субстрата фермента. Доказательством такого развития событий служит увеличение в 2 раза по сравнению с нормой содержания мочевины в синовиальной жидкости и появление в ней аргиназной активности, в норме практически отсутствующей.

Появление активности фермента в суставной жидкости, также как и в плазме крови, может происходить при нарушении проницаемости, дестабилизации биомембран и миграции белков из клеток во внеклеточное пространство. Поскольку при суставных патологиях нарушается структура синовия, можно предположить, что именно этим объясняется значительное повышение активности аргиназы в синовиальной жидкости у обследованных больных гонартрозом. Появление активности фермента в суставной жидкости – показатель ухудшения состояния биобарьеров и проникновение в синовиальную жидкость белков, в том числе и фермента аргиназы. В связи с этим определение активности аргиназы в синовиальной жидкости является весьма информативным показателем состояния синовия, а, следовательно, может служить маркером состояния пациента при гонартрозе.

Из полученных результатов можно сделать вывод об участии системы аргиназа–мочевина в развитии гонартроза.

Проведенный расчет коэффициента корреляции выявляет следующие закономерности.

Активность аргиназы в эритроцитах и синовиальной жидкости связана слабой положительной корреляцией при pH 9,5 (аргиназа 1-го типа), при pH 7,5 (аргиназа 2-го типа) – корреляция отсутствует. Полученный результат подтверждает имеющиеся литературные данные о природе эритроцитарной аргиназы – это изофермент 1-го типа, цитозольной локализации, сходный с печенью.

Мочевина – низкомолекулярное соединение, легко проникающее через гистогематический барьер. Разрушение хрящевой ткани и, как следствие, усиление белкового, азотистого обмена приводят к повышению концентрации конечного метаболита обмена белков – мочевины. Если сравнить содержание мочевины в эритроцитах и синовиальной жидкости, то ясно, что в эритроцитах больных гонартрозом содержание мочевины на 79 % меньше, чем в синовиальной жидкости. Данный факт, вероятно, свидетельствует о пополнении пула мочевины синовиальной

жидкости за счет эритроцитов и, возможно, других клеток. На вероятность такого сценария указывает наблюдаемая умеренная обратная корреляция  $R = -0,43$  содержания мочевины в синовиальной жидкости и эритроцитах больных гонартрозом,

Таким образом, выявленная активация системы аргиназа–мочевина в эритроцитах и синовиальной жидкости при гонартрозе является частью неспецифической реакции и, вероятно, составляет важное звено в патогенеза исследуемой патологии.

---

## **СОСТОЯНИЕ JAK/STAT СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В АГРАНУЛОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА**

*С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина*

*Тульский государственный университет, Лаборатория молекулярной биофизики и протейомики, 300012, Российская Федерация, г. Тула, ул. Смидович, 12  
E-mail: trft@mail.ru*

Цель исследования – изучение в агранулоцитах больных с ИБС концентрации отдельных факторов, определяющих состояние JAK/STAT сигнального пути.

В исследование включены 60 пациентов обоего пола с ИБС, поступивших в клинику в течение первых суток заболевания. Первую группу (НС) составили 35 человек обоего пола в возрасте  $63,5 \pm 2,5$  года, поступивших в клинику с острым коронарным синдромом в первые 3-е суток от начала заболевания. В данную группу включены пациенты с острым первичным трансмуральным инфарктом миокарда и впервые возникшей стенокардией напряжения. Вторую группу (СН) составили 25 пациентов со стенокардией напряжения II–III функционального класса в возрасте  $61,0 \pm 3,5$  года, у 10 из которых в анамнезе (более 5 лет) имел место инфаркт миокарда.

Оценка JAK/STAT сигнального пути осуществлялась по внутриклеточной концентрации в агранулоцитах общей формы янус-киназы 2 (JAK2), сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции STAT3, STAT5B и STAT6.

Иммуноферментный анализ проводился на анализаторе Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия). При проведении исследований использовали наборы реактивов производства CUSABIO BIOTECH (КНР). Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 7.0 (Stat Soft, USA). Данные исследования представляли в виде среднего значения и среднеквадратичного отклонения ( $M \pm SD$ ). Сравнение средних значений производили с помощью непараметрического теста Краскела-Уоллиса (H).

Анализ полученных результатов свидетельствует о снижении, в сравнении с контролем, в исследуемых группах средних значений внутриклеточной концентрации протеинкиназы JAK2 ( $H=39,4$ ;  $p=0,018$ ). При этом в группе СН снижение составило 31,5 % ( $p=0,022$ ), в группе НС – 48,6 % ( $p=0,018$ ), ВП – 12,9 % ( $p=0,051$ ). Результаты проведенного анализа также свидетельствуют о снижении в сравнении с контролем, в группах, средних значений концентрации транскрипционного фактора STAT3 ( $H=47,9$ ;  $p=0,0032$ ). При этом в сравнении с контролем, средние значения STAT3 в группе СН оказались снижены на 49,6 % ( $p=0,025$ ), в группе НС – на 55,3 % ( $p=0,02$ ), в группе ВП – на 20,2 % ( $p=0,037$ ). Проведенный анализ также показал, что внутриклеточный уровень STAT5B характеризуется статистически значимыми межгрупповыми различиями ( $H=58,6$ ;  $p=0,033$ ). При этом в группе СН и НС уровень STAT5B в среднем на 21,5 % ( $p=0,018$ ) и 30,2 % ( $p=0,011$ ) был ниже контрольных. В группе ВП, в сравнении со здоровыми лицами, отмечено повышение уровня STAT5B на 34,6 % ( $p=0,01$ ). Проведенный анализ также выявил статистически значимые межгрупповые различия концентрации STAT6 ( $H=58,5$ ;  $p=0,0033$ ). При этом, в среднем,

в группе СН его уровень превышал контрольные значения на 13,1 % ( $p=0,047$ ), в группе НС – на 51,4 % ( $p=0,019$ ), а в ВП – на 85,4 % ( $p=0,0033$ ).

Результаты исследования выявили особенности межгрупповых различий исследованных факторов у больных с ИБС. Так, в группе СН, в сравнении с НС, отмечено повышенное внутриклеточное содержание фактора STAT3, STAT5B и JAK2 на 12,7 % ( $p=0,03$ ), 12,5 % ( $p=0,031$ ) и 33,2 % ( $p=0,017$ ), соответственно. Вместе с тем уровень фактора STAT6 в группе НС был на 33,8 % ( $p=0,021$ ) выше, такового, группы НС.

Таким образом, иммунное воспаление у пациентов с ИБС протекает на фоне сниженной активности сигнального пути JAK/STAT.

В агранулоцитах цельной крови в группах СН и НС отмечено уменьшение концентрации JAK2 на 31,5 % ( $p=0,022$ ) и 48,6 % ( $p=0,018$ ), снижение уровня STAT3 на 49,6 % ( $p=0,025$ ) и 55,3 % ( $p=0,02$ ), STAT5B на 21,5 % ( $p=0,018$ ) и 30,2 % ( $p=0,011$ ), сочетавшееся с повышением концентрации STAT6 на 13,1 % ( $p=0,047$ ) и 51,4 % ( $p=0,019$ ), а AKT1 на 7,6 % ( $p=0,09$ ) и 15,2 % ( $p=0,039$ ), соответственно.

---

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ РАДИОИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТЕ РАДИОПРОЗРАЧНОСТИ ВОДНЫХ СРЕД НА АКТИВНОСТЬ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ MAPK/SAPK В АГРАНУЛОЦИТАХ**

*С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина*

*Тульский государственный университет, лаборатория молекулярной биофизики и протеомики  
300012, Российская Федерация, г. Тула, ул. Смидович, 12  
E-mail: trft@mail.ru*

Цель исследования – изучение последствий кратковременного облучения культуры клеток цельной крови больных внебольничной пневмонией низкоинтенсивным излучением на частотах резонансной прозрачности водных сред в отношении внутриклеточного содержания терминальных протеинкиназ MAPK/SAPK сигнального пути.

Материалы и методы. Обследовано 30 пациентов мужского пола с внебольничной бактериальной пневмонией (ВП) нетяжелого течения в стадии реконвалесценции (15–17 сутки) в возрасте 20–35 лет. Материалом для исследования служила венозная кровь, забираемая для планового лабораторного исследования в утренние часы (с 7–00 до 7–30) из локтевой вены. Путем разделения пробы крови на четыре части, формировали четыре подгруппы. Первая (1) подгруппа включала необлученные образцы крови ( $n = 30$ ), 2-я – образцы, подвергнутые СВЧ-облучению при плотности потока мощности (ППМ) 0,05 мкВт/см<sup>2</sup>, 3-я – 0,1 мкВт/см<sup>2</sup>, 4-я – 0,15 мкВт/см<sup>2</sup>.

Для проведения исследования 1 мл цельной крови вносили во флакон, содержащий 4 мл среды DMEM. Подготовленные таким образом образцы облучали в течение 45 мин аппаратом микроволновой терапии «Акватон-02» (ООО «ТЕЛЕМАК», г. Саратов), на частоте  $1000 \pm 0,01$  МГц с последующей 24-часовой инкубацией при 37 °С и выделением на градиенте фиколл-верографин ( $\rho = 1,077$ ) агранулоцитов. Оценка функционального состояния агранулоцитов цельной крови включала определение в клеточном лизате концентрации общих форм протеинкиназ JNK1/2, p38MAPK и ERK1/2.

В результате исследования было установлено, что иммуно-воспалительный процесс у обследованных больных характеризуется повышением внутриклеточной концентрации терминальных протеинкиназ JNK, ERK и p38MAPK в лизате мононуклеаров в сравнении со здоровыми лицами в 1,28 ( $p=0,11$ ), 2,0 ( $p=0,024$ ) и 2,15 ( $p=0,0031$ ) раз, соответственно. При этом у обследованных

пациентов, из числа практически здоровых лиц, соотношение внутриклеточных концентраций протеинкиназ ERK/JNK составило  $0,68 \pm 0,012$ , ERK/ p38MAPK и JNK/ p38MAPK –  $8,6 \pm 0,09$  и  $5,8 \pm 0,1$ .

Результаты исследования свидетельствуют об увеличении средних значений внутриклеточной концентрации p38 MAPK на 12,1 ( $p=0,092$ ), 29,3 ( $p=0,0015$ ) и 48,3 % ( $p=0,00001$ ) при увеличении мощности излучения от 0,05 до 0,15 мкВт/см<sup>2</sup>. В указанном диапазоне мощностей, динамика средних значений внутриклеточной концентрации ERK 1/2 составила 1,9 ( $p=0,86$ ), 4,6 ( $p=0,74$ ) и 6,0 % ( $p=0,32$ ), JNK 1/2 – 3,4 ( $p=0,84$ ), 8,4 ( $p=0,37$ ) и 13,3 % ( $p=0,057$ ), соответственно.

Проведенный анализ результатов облучения цельной крови больных ВП свидетельствует, что соотношение внутриклеточной концентрации киназы ERK/JNK составляет  $0,4 \pm 0,01$ , соотношение ERK/p38 MAPK и JNK/ p38MAPK –  $8,0 \pm 0,03$  и  $3,5 \pm 0,018$ , соответственно. Под влиянием облучения отмечалось увеличение соотношения ERK/JNK на 6,2 % ( $p=0,38$ ), и снижение на 23,6 % ( $p=0,044$ ) и 28,5 % ( $p=0,041$ ) ERK/ p38MAPK и JNK/ p38MAPK.

Таким образом, проведенный анализ показал, что под влиянием облучения «классический» MAPK сигнальный путь трансдукции, терминальной киназой которого является ERK, наименее чувствителен к СВЧ-воздействию.

Таким образом, воздействие низкоинтенсивным СВЧ излучением на частотах резонансной прозрачности молекул воды способно существенным образом влиять на реализацию врожденного и адаптивного механизмов иммунного ответа, усиливая их взаимосвязь посредством специфических межклеточных посредников – цитокинов.

---

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ РАДИОИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТЕ РАДИОПРОЗРАЧНОСТИ ВОДНЫХ СРЕД НА РЕАКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И ПРОДУКЦИЮ ИМИ ЦИТОКИНОВ**

*С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина*

*Тульский государственный университет, лаборатория молекулярной биофизики и протеомики  
300012, Российская Федерация, г. Тула, ул. Смидович, 12*

*E-mail: trft@mail.ru*

Цель исследования – изучение эффектов облучения клеток цельной крови микроволновым излучением частотой 1000 МГц, плотностью потока мощности 0,05 мкВт/см<sup>2</sup>.

В исследование включено 30 пациентов мужского пола с внебольничной бактериальной пневмонией (ВП) нетяжелого течения в стадии реконвалесценции (14–20-е сутки) в возрасте 22–37 лет (средний возраст  $27 \pm 4,7$  года).

В ходе исследования 2 мл цельной крови в стерильных условиях вносили во флакон, содержащий 8 мл поддерживающей среды (DMEM), гепарин (2,5 ЕД/мл), гентамицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (0,6 мг/мл). Далее 1 мл полученной разбавленной крови в стерильных условиях переносили во флакон с комплексным митогеном в составе 2 мкг липополисахарида, 4 мкг канавалина А и 4 мкг фитогемагглютинина Р. Облучение образцов крови проводили с помощью аппарата микроволновой физиотерапии «Акватон 02» (ООО «Телемак», г. Саратов, регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10939). Облучение крови осуществляли в культуральных флаконах, непосредственно перед их помещением в термостат. Концентрация цитокинов оценивалась в клеточном супернатанте методом ИФА и включала определение следующих интерлейкинов (IL) IL-2, IL-4, IL-11, IL-12 p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-19, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-28A, а также растворимых форм рецепторов интерлейкина 2 и 4 (sRIL-2, sRIL-4).

Анализ полученных результатов свидетельствует о существенном изменении реактивности клеток цельной крови, подвергнутых кратковременному облучению спустя 3 часа после воздей-

ствия. Так, среднее значение митоген-стимулированной продукции ИЛ-2 под влиянием облучения сократилось на 17,1 % ( $p=0,048$ ), а его растворимой формы на 39,1 % ( $p=0,027$ ). В облученных культурах отмечено снижение продукции ИЛ-4 и sRIL-4 на 47,6 % ( $p=0,022$ ) и 19,3 % ( $p=0,045$ ), соответственно. Воздействие излучения на продукцию субъединиц ИЛ-12, являющегося продуктом Т-хелперов 1-го типа, НК клеток и макрофагов, отличалось противоположным характером. Так, под влиянием облучения уровень активной формы цитокина – субъединицы ИЛ12p70 снижался на 17,9 % ( $p=0,023$ ), при возрастании на 11,3 % продукции p40 ( $p=0,06$ ). Подобная динамика предполагает снижение функциональной активности ИЛ-12 в связи с избыточным уровнем субъединицы p40, обладающей в виде гомодимера способностью блокировать проведение сигнала ИЛ-12. Наибольшее влияние СВЧ-облучение оказывает на продукцию ИЛ-13, концентрация которого в клеточном супернатанте под его воздействием снижалась на 56,0 % ( $p=0,021$ ). Под влиянием облучения отмечалось также понижение концентрации ИЛ-11 на 22,3 % ( $p=0,044$ ), ИЛ-17A на 17,5 % ( $p=0,044$ ), ИЛ-23 на 19,8 % ( $p=0,041$ ) и ИЛ-24 на 38,4 % ( $p=0,025$ ).

В то же время в супернатанте облученных культур отмечено повышение уровня ИЛ-15 на 14,4 % ( $p=0,047$ ), ИЛ-18 на 19,0 % ( $p=0,041$ ), ИЛ-19 на 17,4 % ( $p=0,043$ ), ИЛ-21 на 8,5 % ( $p=0,1$ ), ИЛ-22 на 12,0 % ( $p=0,05$ ) и ИЛ-28A на 3,3 % ( $p=0,12$ ). Таким образом, на фоне митогенной стимуляции культуры клеток цельной крови, микроволновое излучение в наибольшей степени способствует подавлению продукции ИЛ-13 и ИЛ-4, в максимальной степени стимулирует продукцию ИЛ-18, практически не влияя на уровень ИЛ-28A.

Спустя 24 часа после однократного СВЧ-воздействия между облученными и необлученными культурами отмечались менее выраженные изменения цитокиновых профилей, чем в предыдущей группе. В частности, концентрация ИЛ-2 в облученных культурах, подвергнутых митогенной стимуляции, превышала необлученные культуры на 2,9 % ( $p=0,21$ ), sRIL-2 на 1,5 % ( $p=0,25$ ). Среднее значение концентрации ИЛ-4 в облученных культурах превышало таковое, наблюдавшееся в необлученных, на 1,7 % ( $p=0,31$ ), sRIL-4 на 2,5 % ( $p=0,27$ ), ИЛ-11 на 2,1 % ( $p=0,29$ ), ИЛ-12p40 на 10,0 % ( $p=0,06$ ), ИЛ-12p70 на 3,0 % ( $p=0,21$ ), ИЛ-13 на 1,4 % ( $p=0,37$ ), ИЛ-15 на 1,7 % ( $p=0,3$ ), ИЛ-17A на 2,8 % ( $p=0,22$ ), ИЛ-18 на 1,4 % ( $p=0,28$ ), ИЛ-19 на 1,98 % ( $p=0,22$ ), ИЛ-21 на 2,1 % ( $p=0,2$ ), ИЛ-22 на 1,9 % ( $p=0,25$ ), ИЛ-23 на 1,8 % ( $p=0,26$ ), ИЛ-24 на 1,3 % ( $p=0,39$ ), ИЛ-28A на 2,5 % ( $p=0,27$ ). Таким образом, в наибольшей степени под влиянием СВЧ-облучения имело место изменение продукции ИЛ-12p40.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, о том, что СВЧ-облучение клеточных культур на фоне их митогенной стимуляции сопровождается снижением продукции клетками цитокинов, максимально выраженное к 3-му часу после облучения и продолжающимся в течение суток после облучения. В наибольшей степени под влиянием облучения понижается продукция ИЛ-4 и ИЛ-13, повышается – ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-19, ИЛ-22, что указывает на стимуляцию под влиянием облучения в митоген-стимулированных клеточных культурах преимущественно цитотоксической клеточной реактивности.

---

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ИБС

*С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина*

*Тульский государственный университет, лаборатория молекулярной биофизики и протеомики  
300012, Российская Федерация, г. Тула, ул. Смидович, 12  
E-mail: trft@mail.ru*

Цель исследования – изучение в агранулоцитах больных ИБС концентрации отдельных факторов, определяющих состояние сигнальных путей, внутриклеточного метаболизма, а также продукции ими провоспалительных цитокинов.

В исследование включены 60 пациентов обоего пола с ИБС, поступивших в клинику в течение первых суток заболевания. Первую группу (НС) составили 35 человека обоего пола в возрасте  $63,5 \pm 2,5$  года поступившие в клинику с острым коронарным синдромом в первые 3-е суток от начала заболевания. В данную группу включены пациенты с острым первичным трансмуральным инфарктом миокарда и впервые возникшей стенокардией напряжения. Вторую группу (СН) составили 25 пациентов со стенокардией напряжения II–III функционального класса в возрасте  $61,0 \pm 3,5$  года, у 10 из которых в анамнезе (более 5 лет) имел место инфаркт миокарда. Группу сравнения (ВП) составили 25 пациентов, перенесших нетяжелую внебольничную пневмонию (25–30 сутки заболевания) в возрасте  $57,0 \pm 7,0$  лет. Контрольная группа (К) состояла из 15 человек (средний возраст  $59,1 \pm 5,5$  лет), которым по результатам диспансеризации была установлена первая группа здоровья.

Оценка иммунного статуса включала определение в сыворотке крови концентрации интерлейкинов (ИЛ) ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, интерферона- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ). Оценка выраженности воспалительной реакции проводилась посредством определения С-реактивного белка (СРБ) высокочувствительным методом.

Концентрация СРБ у практически здоровых лиц составила  $2,96 \pm 0,125$  мг/л, у реконвалесцентов ВП –  $11,2 \pm 2,51$  мг/л, в группе СН и НС –  $4,8 \pm 0,88$  мг/л и  $6,9 \pm 0,92$  мг/л, соответственно. Анализ результатов исследования показал, что у реконвалесцентов ВП концентрация СРБ превышала нормальные значения в 3,8 раза ( $p=0,001$ ), в группе НС – в 2,3 раза ( $p=0,0019$ ), в группе СН – на 62,2 % ( $p=0,039$ ), отражая проявления субклинического внутрисосудистого воспаления у обследованных лиц.

Анализ полученных результатов свидетельствует о повышенной в сравнении с контролем продукции ИЛ-1 $\beta$  у пациентов с сердечно-сосудистой патологией и реконвалесцентов ВП ( $H=32,0$ ;  $p=0,0001$ ). Так, у больных СН, уровень ИЛ-1 $\beta$  превышал контрольный в среднем на 38,5 % ( $p=0,011$ ), в группе НС – на 44,5 % ( $p=0,01$ ), в группе ВП – на 54,7 % ( $p=0,007$ ).

Продукция ИЛ-2, как в основной группе, так и в группе сравнения, в целом, статистически значимо превышала значения контрольной группы ( $H=54,4$ ;  $p=0,0001$ ). При этом в группе СН превышение составило всего 0,4 % ( $p=0,58$ ), в группе НС – 81,6 % ( $p=0,002$ ), у реконвалесцентов ВП – 34,0 % ( $p=0,027$ ).

Концентрация ИЛ-4 также существенно различалась с уровнем группы контроля ( $H=49,1$ ;  $p=0,0001$ ). При этом уровень ИЛ-4 в группе СН превышал значения здоровых лиц в среднем на 21,5 % ( $p=0,028$ ), в группе НС – на 1,6 % ( $p=0,36$ ). В группе ВП концентрация ИЛ-4 была ниже контрольной на 30,1 % ( $p=0,025$ ).

Средние значения концентрации ИФН- $\gamma$  во всех группах больных были ниже уровня здоровых лиц ( $H=8,8$ ;  $p=0,032$ ). При этом в группе СН его уровень был ниже на 8,7 % ( $p=0,1$ ), в группе НС – на 9,9 % ( $p=0,09$ ), у реконвалесцентов ВП – на 15,3 % ( $p=0,049$ ).

Анализ показал, что в группе НС, в сравнении с СН, имеет место повышение продукции ИЛ-2 на 80,9 % ( $p=0,001$ ) и ИЛ-1 $\beta$  на 4,4 % ( $p=0,13$ ) на фоне снижения продукции ИЛ-4 и ИФН- $\gamma$  на 16,4 % ( $p=0,027$ ) и 1,4 % ( $p=0,43$ ), соответственно.

Результаты оценки иммунного статуса у пациентов с ИБС свидетельствуют об активации мононуклеарно-макрофагальной и системы в сочетании с адаптивным иммунным ответом, регулируемым Т-лимфоцитами. Выявленное повышение продукции ИЛ-2, выявленное у пациентов с НС на фоне относительного повышения ИЛ-4 свидетельствует о повышенной антигенной стимуляции клеток крови и активации иммунного воспаления.

# АКТИВАЦИОННАЯ ПРИРОДА ИНСОМНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ НОЧНОГО СНА

*Е.В. Вербицкий*

*Институт аридных зон Южного научного центра РАН, 344006, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41  
E-mail: e\_verbitsky@ssc-ras.ru*

Бодрствование человека поддерживается за счет высокой активации центральной нервной системы, что обеспечивается деятельностью десятка подкорковых образований [1]. Своеобразие бодрствования, особенности перехода от бодрствования ко сну, а также индивидуальность чередования медленного и быстрого сна зависят от целого ряда причин. Прежде всего, они обусловлены изменениями нейромолекулярных процессов мозга, под влиянием активирующих (ядра гипоталамуса, миндалина и др.) и сомногенных (ядра шва, медиальный таламус и др.) церебральных образований на структуры головного мозга [2]. Кора больших полушарий корректирует активационные процессы посредством нисходящих, модулирующих влияний на нисходящие образования мозга.

Индивидуальные особенности поведения и характер деятельности систем органов, обусловленных стойким преобладанием высокой активации нервной системы в цикле сон–бодрствование, отождествляется с высоким уровнем личностной тревожности человека [3]. При этом чрезмерная активация может приобретать стойкие черты, многие из которых свойственны гиперактивации мозга. В этом случае приоритет активирующих влияний прослеживается на всех уровнях регуляции мозга в цикле сон–бодрствование и находит свое отражение в обеспечении вегетативных процессов в организме, а также в изменениях деятельности сенсорных и регуляторных систем [4]. Это сказывается в показателях вызванных потенциалов разной модальности и в особенностях габитуации размаха их комплексов, в деятельности кардио-респираторной системы, как во сне, так и в бодрствовании [5]. Кроме того, качество сна ухудшается за счет резкого сужения глубины изменений ночного сна. При этом наблюдается депривация глубокого медленного сна и деформация быстрого сна, в течение которого регистрируется сновидческая активность. Также отмечаются нарушения цикличности сна и нарастание количества спонтанных активаций мозга, искажающих закономерности циклической организации сна в течение ночи.

На основании сравнительного анализа клинических показателей первичной инсомнии, а также изменений, выявляемых в случае высокой личностной тревожности, обобщаются сходные черты и выявляются существующие различия в характере регуляции ночного сна и последующего бодрствования. Обсуждаются взгляды на активационную природу гиперактивации центральной нервной системы и рассматриваются последствия ее формирования для понимания причин нарушений цикла сон–бодрствование. На основании интеграции представлений о физиологических механизмах регуляции сна и обобщения клинических взглядов на природу развития первичной инсомнии, обосновывается точка зрения о риске инсомнических расстройств сна у лиц с высоким уровнем личностной тревожности. Рассматриваются обстоятельства, которые способствуют или, наоборот, препятствуют указанному риску, что важно для осознания социологических предпосылок для прогноза указанного риска.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Atlas of clinical sleep medicine / Ed. by M.H. Kryger. Elsevier, Philadelphia, 2015. 496 p.
2. Ковальзон В.М. Основы сомнологии. М.: Бином, 2011. 239 с.
3. Сон и тревожность / Под ред. Е.В. Вербицкого. Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2008. 240 с.
4. Вербицкий Е.В. Психофизиология тревожности. Ростов н/Д: Изд-во РГУ, 2003. 192 с.
5. Вербицкий Е.В. Сон и тревожность // Журнал высшей нервной деятельности. 2013. Т. 63, № 1, С. 6–12.

# РОЛЬ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ (АТИПИЧНЫХ) ПАТОГЕНОВ В ФОРМИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОГО МИКСОИДНОГО ЛАРИНГИТА. ПРЕД- И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ХИРУРГИИ ГОРТАНИ

*И.М. Веницкая*

*Южный федеральный университет, кафедра основ медицинских знаний, 344038, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Нагибина, 13  
ivinitskaya@mail.ru*

Цель исследования: повышение эффективности качества лечения больных хроническим миксоидным ларингитом, установление предпосылок его возникновения, а также предотвращение рецидивов заболевания в раннем и отдаленном послеоперационном периоде. Впервые проведены адекватные исследования, устанавливающие причинную связь между присутствием атипичных (внутриклеточных) бактерий (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydothilla pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*) и формированием хронического миксоидного ларингита.

Задачами исследования являлись выбор наиболее быстрого и точного метода выявления внутриклеточных патогенов в цилиндрическом эпителии слизистой оболочки при хроническом ларингите, сопровождающемся формированием миксоидных полипов, с учетом феномена «персистенция» и особенностей биоцикла внутриклеточных патогенов.

Исследование включало применение двух методов выявления внутриклеточной инфекции: соскобы эпителия задней стенки глотки (который является локусом для персистенция внутриклеточных бактерий) с целью выявления антигенов (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *C. trachomatis*) методом прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) и культуральное выявление *C. trachomatis*.

В исследовании принимали участие 32 пациента (7 женщин и 25 мужчин) в возрасте от 18 до 68 лет, ранее получавшие лечение с применением бета-лактамов и цефалоспоринов, с отсутствием стойкого эффекта от предшествовавшего хирургического лечения, с традующих хроническим миксоидным ларингитом, которые нуждались в хирургическом лечении. Внутриклеточные бактерии были выявлены в 26 случаях: исследование позволило обнаружить *M. pneumoniae* в 21 случае, *C. pneumoniae* в 13 случаях и *C. trachomatis* в 7 случаях. Два внутриклеточных патогена были найдены у 15 пациентов. Контрольная группа составляла 7 пациентов (3 женщины и 4 мужчины) в возрасте от 19 до 44 лет.

Все пациенты исследуемой группы были пролечены 16-членными макролидами, тетрациклинами и «респираторными» фторхинолонами в течении одной – трех недель после хирургического лечения. Больные в контрольной группе не получали антибактериального лечения. Через три месяца ни у одного пациента из исследуемой группы не было выявлено присутствия внутриклеточной инфекции в тканях слизистой, в то время как у контрольной группы выявлялись данные патогены.

Исследование подтвердило существенную роль внутриклеточных патогенов в формировании хронического миксоидного ларингита. Внутриклеточные бактерии часто присутствуют в эпителии слизистой оболочки дыхательных путей пациентов, страдающих хроническим миксоидным ларингитом. Подтверждена высокая эффективности этиотропной терапии при миксоидных ларингитах, и как следствие, уменьшение числа рецидивов процесса в гортани.



# РОЛЬ ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ИБС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЯМУЮ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЮ МИОКАРДА

*В.В. Внуков<sup>1</sup>, Р.В. Сидоров<sup>2</sup>, Н.П. Милютин<sup>1</sup>, Д.Ю. Гвалдин<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

E-mail: 89dmitry@mail.ru

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются глобальной медико-социальной проблемой. Так, в России распространенность ишемической болезни сердца (ИБС) среди взрослого населения составляет 13,5 % [1]. С каждым годом растет число кардиохирургических вмешательств, а параллельно – частота послеоперационных осложнений, одним из которых является постперикардотомный синдром (ПКТС). ПКТС – это специфическая форма травматического перикардита, развивающаяся в рамках системной воспалительной реакции организма, сопряженной с нарушением редокс-гомеостаза и интенсификацией свободнорадикальных процессов.

В связи с этим представляет интерес исследование состояния глутатион-зависимой системы (ГЗС), которая вносит существенный вклад в антиоксидантную защиту клеток от деструктивного воздействия окислительного стресса и поддержание оптимального уровня свободнорадикального гомеостаза в крови больных ИБС после прямой реваскуляризации миокарда.

Обследовано 50 больных ИБС в возрасте 41–75 лет ( $58 \pm 1,5$ ), которые перенесли аортокоронарное шунтирование. Больные были разделены на две группы: 1-я – больные ИБС, у которых в результате клинических исследований был установлен ПКТС; 2-я – больные ИБС, у которых ПКТС не был обнаружен. Биохимические показатели исследованы в динамике: на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е и 10-е сутки послеоперационного периода. В качестве контроля использовали кровь 20 практически здоровых людей доноров обоего пола в возрасте от 35 до 52 лет (средний возраст  $46,2 \pm 0,7$ ).

Для оценки состояния ГЗС исследовали активность глутатионпероксидазы (ГПО), глутатион-Странсферазы (GST), глутатионредуктазы (ГР) и содержание восстановленного глутатиона (GSH).

Получены результаты, свидетельствующие о заметном повышении содержания GSH в течение всего исследованного периода в эритроцитах крови, как у больных с клинически диагностированным ПКТС, так и у больных без данного синдрома. В 1-й группе уровень GSH возрастает от 33 до 42 %, во 2-й – от 31 до 84 %. Статистически достоверных отличий между 1-й и 2-й группами не обнаружено.

Установлено снижение на 23–39 % активности ГПО в эритроцитах крови у больных ИБС без ПКТС с момента операции по 10-е сутки послеоперационного периода. Динамика активности ГПО в эритроцитах крови больных с ПКТС не имеет статистически достоверных отличий по сравнению с донорами.

Обнаружено значительное повышение активности ГР в эритроцитах крови в обеих группах больных. Так, активность ГР в 1-й группе достигает максимума на 5-е сутки (+411 %) после оперативного вмешательства, а во 2-й уже на 3-е сутки (+562 %) после операции.

Наблюдается существенная активация GST в обеих группах больных по сравнению с донорами. Активность GST в эритроцитах больных без ПКТС возрастает с 1-х и по 10-е сутки после

операции (от 180 до 207 %) с максимумом (+207 %) на 5-е сутки. В то же время в эритроцитах больных с ПКТС активность GST повышается от 148 до 271 % и достигает максимального прироста уже на 3-е сутки (+271 %) после операции.

Таким образом, прямая реваскуляризация миокарда, несмотря на терапевтическую эффективность, сопряжена с существенными изменениями редокс-гомеостаза, которые, в свою очередь, могут повлиять на развитие послеоперационных осложнений. Особенно выражена напряженность и дисрегуляция в работе глутатион-зависимых ферментов у больных с ПКТС. Ранние изменения динамики этих ферментов могут соответствовать быстрой форме ПКТС, развивающегося в течение первых пяти суток после оперативного вмешательства. Дальнейшее исследование показателей ГЗС в крови больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование, представляется перспективным для понимания механизмов развития послеоперационных осложнений и выбора наиболее эффективной тактики ведения больных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Шальнова С.А.* Ишемическая болезнь сердца в России: распространенность и лечение (по данным клинико-эпидемиологических исследований) // Терапевтический архив. 2011. № 1. С. 7–12.

---

## АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ МАКРОПРОЛАКТИНЕМИИ У ОБСЛЕДУЕМЫХ С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ ПРОЛАКТИНА

*Л.В. Гутникова<sup>1</sup>, Ю.А. Лебедева<sup>1</sup>, И.М. Белоусова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Южный федеральный университет, Научно-исследовательский институт биологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

<sup>2</sup>*Клинико-диагностическая лаборатория «Наука», 344034, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, Загорская 23а*

*E-mail: gutnikova77@mail.ru*

Повышение уровня пролактина в крови в 10–46 % случаев сопровождается развитием макропролактинемии [1–3]. Под феноменом макропролактинемии подразумевается преобладание в крови высокомолекулярной формы макро-, или big-big-пролактина, обладающей меньшей биологической доступностью из-за сниженной способности проникать через стенки капилляров, и, как следствие, накапливающейся в крови в значительной концентрации. При различном соотношении в крови высокомолекулярного и мономерного пролактина симптомы гиперпролактинемии могут отличаться. В связи с этим как основание для выбора тактики лечения и назначения диагностических процедур при выявлении гиперпролактинемии показано определение фракций пролактина [4].

Цель исследования: оценить частоту макропролактинемии у жителей г. Ростова-на-Дону и Ростовской области с повышенным уровнем пролактина сыворотки крови.

За период с января 2014 года по июль 2015 года было обследовано 11792 жителей г. Ростова-на-Дону и Ростовской области. Анализ уровня пролактина проводили в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Alisei» (Италия) ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ и иммунохемилюминесцентной системе IMMULITE 2000 с использованием тест-систем производства «АлкорБио» (Россия) и Siemens (Германия). Уровень макропролактина определяли методом сопоставления концентрации пролактина до

и после ПЭГ-преципитации иммунных комплексов. Забор крови проводили натощак в утренние часы с использованием вакуумных систем. Сыворотку крови получали путем центрифугирования цельной крови при 3000 об. в течение 10 мин.

В результате анализа концентрации пролактина в сыворотке крови было установлено, что среди жителей г. Ростова-на-Дону и Ростовской области высокий уровень пролактина выявлен у женщин в 13 % случаев, у мужчин в 16 % случаев (табл. 1).

Таблица 1

**Количество выявленных случаев повышенного уровня пролактина у женщин и мужчин г. Ростова-на-Дону и Ростовской области**

Пол обследуемых	Кол-во обследуемых, абс.	Кол-во пациентов с высоким пролактином	
		абс.	%
женский	10681	1372	13
мужской	1111	175	16

Таблица 2

**Распределение обследуемых по уровню макропролактина среди выявленных случаев гиперпролактинемии**

Пол обследуемых	Кол-во обследуемых, с уровнем макропролактина <40 %,		Кол-во обследуемых, с уровнем макропролактина 40–60 %,		Кол-во обследуемых, с уровнем макропролактина >60 %,	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
женский	726	53	345	25	301	22
мужской	113	65	30	17	32	18

У жителей г. Ростова-на-Дону и Ростовской области гиперпролактинемия в среднем (20 % случаев) обусловлена высоким уровнем макропролактина и приблизительно в 20 % сопровождается умеренным (пограничным) повышением макропролактина (см. табл. 2).

*ЛИТЕРАТУРА*

1. *Hauache O.M., Rocha A.J., Maia A. et al.* Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies // Clin. Endocrinol. (Oxf). 2002. № 3. Vol. 57. P. 327–331.
2. *Leslie H., Courtney C.H., Bell P.M. et al.* B. Laboratory and Clinical Experience in 55 Patients with Macroprolactinemia Identified by a Simple Polyethylene Glycol Precipitation Method // Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2001. № 6. Vol. 86. P. 2743–2746.
3. *Vilar L., Freitas M.C., Naves L.A. et al.* Diagnosis and management of hyperprolactinemia: results of a Brazilian multicenter study with 1234 patients // J. Endocrinol. Invest. 2008. 5. Vol. 31. P. 436–444
4. *Бармина И.М.* Макропролактинемия: клинические проявления, диагностика, тактика ведения: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.03. М., 2009. 22 с.:

*Исследование выполнено в рамках базовой части государственного задания Министерства образования РФ № 1878 «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».*

# ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НИКЛОЗАМИДА В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ЛИНИЙ МЕЛАНОМЫ И КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ЧЕЛОВЕКА

А.С. Жирник, Е.Ю. Москалева, С.Е. Северин

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1

E-mail: as.zhirnik@mail.ru; moskalevaey@mail.ru; sergsev@inbox.ru

В настоящее время обнаружено, что лекарственный препарат никлозамид, использующийся в медицине как антигельминтное средство более 50 лет, обладает высокой противоопухолевой активностью в отношении различных видов злокачественных новообразований [1]. Показано, что он обладает цитотоксическим действием в отношении опухолевых клеток различных типов [2], однако его противомеланомная активность не изучена, и имеются лишь ограниченные данные о его эффективности в отношении клеток колоректального рака (КРР) [3]. Целью работы было исследование активности никлозамида в отношении различных линий клеток меланомы и клеток КРР человека.

Клетки перевиваемых линий меланомы Mel-8, Mel-10 и MS и КРР человека Caco-2 (аденокарцинома ободочной кишки), COLO 320 HSR (карцинома сигмовидной кишки) и SW 837 (аденокарцинома прямой кишки) культивировали в среде DMEM с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки и 50 мкг/мл гентамицина (полная культуральная среда), в пластиковых культуральных флаконах при 37 °С в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в увлажненной атмосфере, содержащей 5 % CO<sub>2</sub>. Никлозамид (5-хлоро-N-(2-хлоро-4-нитрофенил)-2-гидроксибензамид) растворяли в ДМСО в концентрации 20 мМ. Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста по методу Т. Mosmann [4]. МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид) растворяли в фосфатно-солевом буфере (5 мг/мл), перед использованием готовили 1 мг/мл раствор в полной культуральной среде. За день до добавления препарата клетки линий меланомы и КРР высевали в 96-луночные плоскодонные планшеты в количестве 3 500 и 10 000 клеток на лунку, соответственно; объем среды с клетками составлял 100 мкл. Препарат в требуемой концентрации добавляли в объеме 100 мкл и инкубировали клетки в течение 72 ч. За 4 ч до окончания инкубации в каждую лунку добавляли 50 мкл 1 мг/мл раствора МТТ. Выживаемость клеток оценивали в процентах от контроля (клетки без препарата), и по кривым выживаемости (рис.) рассчитывали значения IC<sub>50</sub> (табл.).

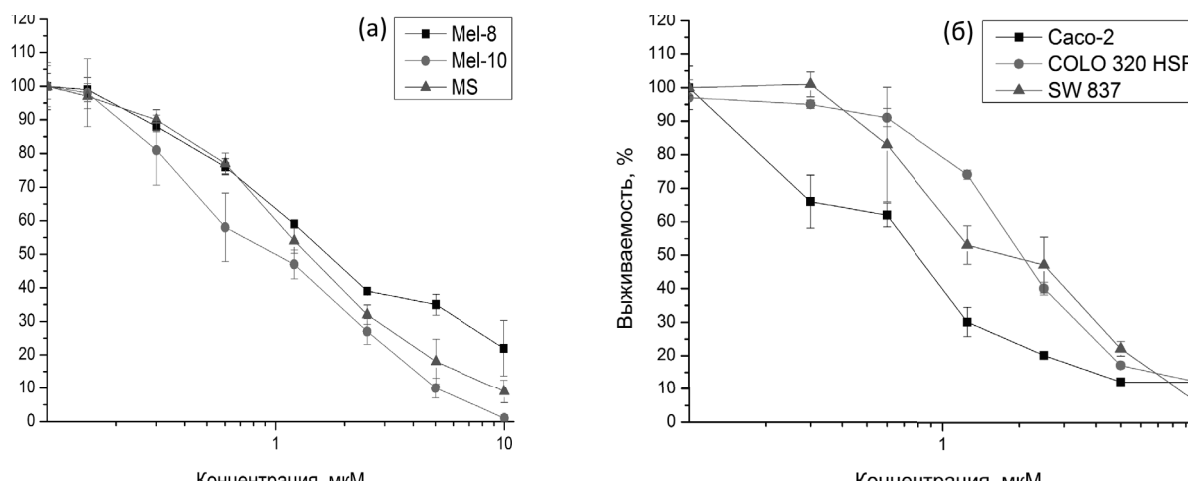


Рис. Выживаемости клеток меланомы (а) и КРР (б) от концентрации никлозамида

Значения  $IC_{50}$  \* никлозамида для исследуемых линий меланомы и КРР человека

Клеточная линия	Mel-8	Mel-10	MS	Caco-2	COLO 320 HSR	SW 837
Значение $IC_{50}$ , мкМ**	2,17±0,44	0,94±0,26	1,2±0,36	0,89±0,16	2,09±0,17	2,14±0,2

\*  $IC_{50}$  – концентрация препарата, при которой погибает 50 % клеток

\*\* Среднее арифметическое по данным трех независимых экспериментов ± среднее квадратичное отклонение.

Полученные результаты показывают, что никлозамид обладает выраженным цитотоксическим действием в отношении исследуемых линий меланомы и КРР, причем значения действующей концентрации находятся в микромолярном диапазоне. Сравнивая противоопухолевую активность никлозамида в отношении меланомы и КРР, можно сделать вывод о том, что данный препарат эффективен в отношении различных клеточных линий и, более того, в отношении опухолевых клеток различных злокачественных новообразований. Поэтому возможно создание новых противоопухолевых средств на базе никлозамида или его производных. В настоящее время никлозамид рассматривается как потенциальный противоопухолевый препарат, однако механизм его действия пока еще не до конца изучен.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Li Y, Li P.K., Roberts M.J., Arend R.C., Samant R.S., Buchsbaum D.J. Multi-targeted therapy of cancer by niclosamide: A new application for an old drug // Cancer letters. 2014. Vol. 349. № 1. P. 8–14.
2. Pan J.X., Ding K., Wang C.Y. Niclosamide, an old antihelminthic agent, demonstrates antitumor activity by blocking multiple signaling pathways of cancer stem cells // Chinese Journal of Cancer. 2012. Vol. 31. № 4. P. 178–184.
3. Osada T., Chen M., Yang X.Y. Antihelminth compound niclosamide downregulates Wnt signaling and elicits antitumor responses in tumors with activating APC mutations // Cancer research. 2011. Vol. 71. № 12. P. 4172–4182.
4. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays // Journal of Immunological Methods. 1983. Vol. 65. P. 55–63.

*Работа выполнена при финансовой поддержке соглашения о субсидии № 14.604.21.0072 по проекту: «Разработка технологии получения полимерных форм препаратов для лечения онкологических заболеваний» в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы».*

## ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПОЛИМЕРНОЙ ФОРМЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ЭТОПОЗИД

***В.В. Заварзина, А.И. Муравьева, В.Г. Перевозчикова, Ю.П. Семочкина,  
Л.Б. Горшкова, Г.А. Посыпанова, Е.А. Воронцов, С.Е. Северин***

*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1  
E-mail: vasilisa.zavarzina@yandex.ru*

Этопозид является важным противоопухолевым агентом при лечении различных видов рака. Препарат принимается внутривенно или перорально. Известно, что этопозид всасывается из желудочно-кишечного тракта, биодоступность в среднем составляет 50 % и уменьшается

с увеличением дозы из-за снижения растворимости этопозида в желудке и тонкой кишке при повышении концентрации препарата.

С целью повышения противоопухолевой активности и снижения токсического воздействия была получена полимерная форма этопозида. На этапе скрининга определен наиболее перспективный состав полимерной формы: этопозид, полимер PLGA 50/50, поливиниловый спирт, D-манит. Изучение эффективности полимерной формы этопозида в отношении резистентных опухолевых клеток было проведено с использованием чувствительной и резистентной сублиний клеток линии аденокарциномы молочной железы MCF-7 и MCF-7ADR и чувствительной и резистентной сублиний клеток линии K562 и K562ADR, резистентность которых определяется высоким уровнем экспрессии белка MDR1.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что полимерная форма этопозида обладает более высокой специфической активностью, чем субстанция этопозида в отношении высоко резистентных сублиний опухолевых клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7ADR и миелолейкоза человека K562ADR, резистентность которых определяется высоким уровнем экспрессии белка MDR1. Значения IC<sub>50</sub> в обоих вариантах резистентных клеток значительно ниже при использовании полимерной формы этопозида и составляют 300,0 и 31,0 мкМ для клеток линии MCF-7ADR и K562ADR, соответственно, в то время как значения IC<sub>50</sub> при использовании субстанции этопозида составило 408,6 и 74,3 мкМ для клеток линии MCF-7ADR и K562ADR, соответственно. В ходе испытаний полимерной формы этопозида на модели перевиваемого лимфолейкоза мышей P388 было обнаружено, что разработанный препарат проявлял значительную противоопухолевую активность, сравнимую с активностью препарата сравнения – Этопозидом, но был менее токсичным. Торможение роста опухолей превышало 80 %, увеличение продолжительности жизни достигало 40 % (для солидной опухоли) и 100 % (для асцитной опухоли).

*Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение о предоставлении субсидии № 14.604.21.0072 от 27.06.2014; уникальный идентификатор проекта: RFMEFI60414X0072).*

---

## **ПОЛИМОРФНЫЕ МАРКЕРЫ *Arg72Pro* И *Gln157Lys* ГЕНА *TP53* В НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО**

***Т.М. Заварыкина<sup>1</sup>, М.В. Аткарская<sup>1</sup>, Г.П. Жижина<sup>1</sup>, А.М. Бурдённый<sup>2</sup>, В.И. Логинов<sup>2</sup>***

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Российская Федерация, г.Москва, ул. Косыгина, 4*

*Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, 125315, Российская Федерация, г.Москва, ул. Балтийская, 8*

*Email: zhizhina@sky.chph.ras.ru*

Развитие индивидуальной медицины – важная часть общей системы здравоохранения, особенно в отношении пациентов с онкологическими заболеваниями. Оценка индивидуального генетического риска основана на изучении полиморфных маркеров генов, специфичных для различных болезней, особенно для таких социально значимых, как рак легкого (РЛ). В России ежегодно от РЛ погибает свыше 60 000 человек, что составляет более 20 % всех умерших от злокачественных опухолей. С помощью предиктивных маркеров могут быть сформированы группы повышенного риска развития этого заболевания, что поможет существенно снизить количество больных. РЛ, подобно другим видам рака, является многофакторным заболеванием.

В его патогенезе важную роль играют гены-супрессоры опухолей. Одним из важнейших генов-супрессоров в клетке является ген *TP53*, кодирующий белок p53, который контролирует клеточный цикл и подавляет рост опухолей. Ген *TP53* имеет ряд полиморфных маркеров; маркеры *Arg72Pro* и *Gln157Lys* являются наиболее важными в случае РЛ.

Мы изучали ассоциацию полиморфных маркеров *Arg72Pro* и *Gln157Lys* гена *TP53* с риском развития немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) у пациентов Московского региона. В наше исследование были включены 80 пациентов с НМРЛ, 60 здоровых лиц в качестве контроля. Для идентификации аллелей полиморфных маркеров был использован метод ПЦР-ПДРФ. Мы наблюдали более высокие частоты предрасполагающих генотипов маркеров в группе пациентов, чем в контрольной группе. Частота распределения генотипа *Pro/Pro* маркера *Arg72Pro* была равна 0,307 в группе пациентов и 0,083 в контроле. Для маркера *Gln157Lys* генотипа *Lys/Lys* не наблюдалось. Частота генотипа *Gln/Lys* маркера *Gln157Lys* у пациентов равнялась 0,377, а в контроле 0,106. Выявлена ассоциация обоих маркеров с риском развития НМРЛ (табл.). Так, носительство генотипа *Pro/Pro* маркера *Arg72Pro* увеличивает риск развития НМРЛ: OR=5,46,  $p<0,0001$ . Наличие генотипа *Gln/Lys* маркера *Gln157Lys* также соответствует увеличению риска развития НМРЛ: OR=5,10,  $p=0,002$ . Выявлено, что курение повышает риск развития НМРЛ у носителей генотипа *Pro/Pro* маркера *Arg72Pro* и не влияет на этот показатель для маркера *Gln157Lys*. Наши результаты свидетельствуют о важности исследования полиморфных маркеров *Arg72Pro* и *Gln157Lys* гена *TP53* для оценки риска развития НМРЛ.

Таблица

**Ассоциации предрасполагающих генотипов маркеров *Arg72Pro* и *Gln157Lys* гена *TP53* с риском развития НМРЛ и его гистологических типов, а также влияния курения**

Группа	Пациенты, n	Контроль, n	Маркер	Генотип	p	OR
НМРЛ	88	60	<i>Arg72Pro</i>	<i>Pro/Pro</i>	<0,0001	5,46
			<i>Gln157Lys</i>	<i>Gln/Lys</i>	0,002	5,10
ПКРЛ	56	60	<i>Arg72Pro</i>	<i>Pro/Pro</i>	0,04	3,67
			<i>Gln157Lys</i>	<i>Gln/Lys</i>	0,002	4,13
АК	24	60	<i>Arg72Pro</i>	<i>Pro/Pro</i>	0,007	5,41
			<i>Gln157Lys</i>	<i>Gln/Lys</i>	0,0003	9,00
Курящие больные АК	9	25	<i>Arg72Pro</i>	<i>Pro/Pro</i>	0,05	6,25
			<i>Gln157Lys</i>	<i>Gln/Lys</i>	>0,05	-
Курящие больные ПКРЛ	38	25	<i>Arg72Pro</i>	<i>Pro/Pro</i>	0,04	8,57
			<i>Gln157Lys</i>	<i>Gln/Lys</i>	>0,05	-

Наши результаты свидетельствуют о важности изучаемых маркеров для оценки риска развития НМРЛ. Статус полиморфных маркеров *Arg72Pro* и *Gln157Lys* гена *TP53* может служить в качестве независимого прогностического индикатора этого онкологического заболевания. Выявленные особенности могут использоваться при разработке современных методов прогнозирования, профилактики и лечения немелкоклеточного рака легкого и его гистологических типов, а также для формирования групп риска пациентов московского региона, в особенности тех из них, которые курят и у которых обнаруживается любое сочетание предрасполагающих факторов. Важно отметить, что полиморфный маркер *Gln157Lys* в России не рассматривался ни в одном исследовании и результаты получены для российской популяции впервые.

# ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ИНСЕРЦИЙ И ДЕЛЕЦИЙ ALU-ЭЛЕМЕНТОВ С ДОЛГОЛЕТИЕМ

*Д.Д. Каримов, В.В. Эрдман, Т.Р. Насибуллин, О.Е. Мустафина*

*Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Российская Федерация, г. Уфа, пр. Октября 71  
E-mail: karriden@gmail.com*

На протяжении всей истории человечества наиболее актуальным вопросом науки является проблема старения и долголетия. Было выдвинуто множество теорий старения, большинство из которых представляют сегодня только исторический интерес. Среди современных гипотез наиболее интересная связывает старение с геномной нестабильностью. Предполагается, что нестабильность оказывает глубокое влияние на экспрессию генов, приводит к нарушению процессов жизнедеятельности клетки. Одним из факторов нестабильности генома является активация *Alu*-элементов под влиянием стрессоров. В геноме человека находится около 1 млн. копий *Alu*-ретропозонов, широко представлен полиморфизм, обусловленный их вставкой или выпадением. Инсерции *Alu*-элементов могут привести к изменению уровня экспрессии либо сайленсингу гена.

Цель исследования состояла в анализе ассоциаций инсерционно-делеционных *Alu*-полиморфных локусов (In/Del) Yb8AC702 в гене фиброцитстина L (*PKHD1L1*), Yb8NBC516 в гене R-кадгерина (*CDH4*), и Yb8NBC597 в гене семафорина 6A (*SEMA6A*) с долголетием человека.

Белок фиброцистин-L является рецепторным белком, экспрессирующимся в иммунных клетках. Его гомолог фиброцистин ассоциирован с полицистронной болезнью почек и печени (Polycystic Kidney and Hepatic Disease). R-кадгерин является кальций-зависимым протеином клеточной адгезии, входит в суперсемейство белков кадгеринов. Играет роль в росте нейронов и сегментации мозга, развитии почек и мышечной ткани. Семафорин 6A является рецепторным белком, играет важную роль в формировании мозжечка, участвует в межклеточном сигналинге.

Была использована выборка из 1722 человек в возрасте 20–109 лет, татар по этнической принадлежности. Выделение ДНК проводилось методом фенольно-хлороформной экстракции; генотипирование осуществлялось методом ПЦР; статистический анализ производился с использованием программы SPSS 17.0. Для сравнения групп по частотам аллелей и генотипов использовался точный двусторонний тест Фишера, для статистической обработки данных использовался метод бинарной логистической регрессии, позволяющий выявить зависимость бинарного признака от другого фактора. При анализе результатов исследования выборку подразделяли на возрастные группы согласно классификации, принятой на 7-й Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии (1965 г.).

Охарактеризовано распределение частот *Alu*-инсерционного локуса Yb8AC702 гена *PKHD1L1* (8q23.2). Частоты генотипов *PKHD1L1*\*I\*I, *PKHD1L1*\*I/\*D, и *PKHD1L1*\*D/\*D составили 21,1 %, 54,25 % и 24,65 %, соответственно; частоты аллелей *PKHD1L1*\*I и *PKHD1L1*\*D составили 48,23 % и 51,77 %, соответственно. Равновесное распределение частот генотипов в группах соблюдается.

Выявлено значимое снижение частоты генотипа *PKHD1L1*\*I/\*D и повышение частоты генотипа *PKHD1L1*\*D/\*D с возрастом. Согласно данным регрессионного анализа, с возрастом повышается встречаемость генотипа *PKHD1L1*\*D/\*D.

Определены частоты *Alu*-инсерционного локуса Yb8NBC516 в гене *CDH4* (20q13.33). Частоты генотипов *CDH4*\*I\*I, *CDH4*\*I/\*D и *CDH4*\*D/\*D составили 1,93, 17,7 и 80,37 %, соответственно; частоты аллелей *CDH4*\*I и *CDH4*\*D составили 10,78 и 89,22 %, соответственно. Равновесное распределение частот генотипов в группах соблюдается.

При сравнении частот аллелей и генотипов статистически значимых различий между возрастными группами обнаружено не было. Согласно данным регрессионного анализа, по достижении возраста 78–82 лет возрастает возможность накопления генотипа *CDH4*\*D/\*D и снижается вероятность накопления генотипа *CDH4*\*I\*I.



Получены данные о встречаемости Alu-инсерционного локуса Yb8NBC597 гена *SEMA6A* (5q23.1). Частоты генотипов *SEMA6A*\*I/\*I, *SEMA6A* \*I/\*D и *SEMA6A* \*D/\*D составили 5,56, 32,13 и 62,31 %, соответственно; частоты аллелей *SEMA6A* \*I и *SEMA6A* \*D составили 21,62 и 78,38 %, соответственно. Равновесное распределение частот в каждой возрастной группе соблюдается.

При сравнении частот аллелей и генотипов статистически значимых различий между возрастными группами обнаружено не было. Согласно данным регрессионного анализа, у женщин в возрасте 20–77 лет и старше 83 лет происходит накопление генотипа *SEMA6A* \*I/\*I.

Таким образом, согласно полученным данным, генотип *PKHD1L1*\*D/\*D является протективным по отношению к долголетию.

*Работа поддержана грантом РФФИ-Поволжье № 14–04–97094.*

---

## **ПРОДУКЦИЯ NO И АКТИВАЦИЯ NO-СИНТАЗЫ В НЕЙРОНАХ И ГЛИЕ ПРИ ФДТ**

***В.Д. Ковалева, А.Б. Узденский***

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии, Лаборатория молекулярной нейробиологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: vdkovaleva@sfnedu.ru*

Окислительное повреждение клеток ведет к развитию многих патологических процессов. Окислительный стресс, вызываемый фотодинамической терапией (ФДТ), используют для разрушения злокачественных опухолей, в частности опухолей мозга. В основе ФДТ лежит фотодинамический эффект, который заключается в смерти окрашенных фотосенсибилизирующим красителем клеток под действием света в присутствии кислорода. Однако при ФДТ могут повреждаться не только опухолевые клетки, но и здоровые нейроны и глиальные клетки (ГК). Таким образом, исследовать механизмы, лежащие в основе фотодинамического воздействия (ФД-воздействия) и механизмы защиты здоровых нейронов и ГК, чрезвычайно важно.

Оксид азота (NO) – важная сигнальная молекула, участвующая в процессах нейродегенерации, нейротрансмиссии и клеточном ответе на стресс. Ранее нами было показано, что NO участвует в процессах фотоиндуцированного повреждения нейронов и ГК рецептора растяжения речного рака, простейшего нейроглиального препарата, состоящего из одиночного сенсорного нейрона, окруженного оболочкой глиальных клеток. NO защищал глиальные клетки от некроза, индуцированного ФД-воздействием и, в то же время, усиливал фотоиндуцированный апоптоз глиальных клеток.

В настоящей работе мы изучили фотоиндуцированную продукцию NO, используя 4,5-диаминофлуоресцеин диацетат (DAF-2DA), флуоресцентный зонд на NO. Препараты инкубировались в растворе DAF-2DA (1:500) в течение 60 мин для загрузки красителя. Затем препараты многократно отмывались в физиологическом растворе, чтобы удалить избыток красителя. После инкубации с DAF-2DA в ванночку добавляли фотосенсибилизатор Фотосенс ( $1 \cdot 10^{-8}$  М). После 30-минутной инкубации с фотосенсибилизатором препараты облучались полупроводниковым лазером (670 нм, 0,4 Вт/см<sup>2</sup>). Диаметр лазерного луча был 3 мм; так, сомы нейронов и значительная часть аксона были облучены. Нейроны облучались в течение 30 мин, в течение этого времени они переставали генерировать ПД (обычно за 10–20 мин). Препараты фотографировали до ФДТ и с определенными интервалами во время ФДТ (спустя 1, 4, 7, 10 и 15 мин ФД-воздействия). Затем интенсивность флуоресценции и пространственное распределение NO в рецепторах растяжения рака оценивалось с помощью программы Image PRO.

Наиболее яркая флуоресценция DAF-2DA наблюдалась в глиальной оболочке вокруг сомы нейрона; клетки глиальной оболочки аксона также флуоресцировали. Более слабая флуоресценция отмечена в ядре, но не в цитоплазме тела нейрона. Динамика продукции NO при ФД-воздействии носила двухфазный характер. До 4–7-й мин ФД-воздействия продукция NO быстро увеличивалась приблизительно в 1,4 раза, а на 10-й мин уменьшалась до уровня, вдвое ниже исходного уровня продукции. Максимальная продукция NO была отмечена на 4–7-й мин ФД-воздействия. Аналогично менялась и активность NO-синтазы в гистохимическом исследовании активности NADPH-диафоразы, маркера присутствия NO-синтазы в нейронах.

Гистохимическое исследование показало, что NO-синтаза локализуется преимущественно в теле нейрона, в околядерной области. В контрольных препаратах также хорошо прокрашивались дендритные окончания и тонкие мышечные волокна. В ГК мы не наблюдали существенной активности NO-синтазы. Фотометрическая оценка показала, что средняя активность NO-синтазы в теле нейронов контрольной группы была достоверно ниже активности фермента в нейронах, подвергшихся ФД-воздействию, и окрашенных сразу после облучения. Однако в нейронах, которые окрашивались через 4 ч после ФД-воздействия, активность NO-синтазы достоверно снижалась по сравнению с контрольной группой и группой, в которой нейроны окрашивались сразу после ФД-воздействия. Это свидетельствует о том, что ФД-воздействие приводит сначала к активации NO-синтазы в нейронах, а затем к снижению ее активности.

Таким образом, было показано, что выявленное противонекрозное и проапоптозное действие NO обусловлено резким увеличением его продукции в начале ФД-воздействия. Мы полагаем, что такая продукция NO обусловлена быстрой активацией, нейрональной изоформы NO-синтазы (nNOS). Динамика фотоиндуцированной продукции NO, вероятно, определяет сигнальные механизмы, посредством которых NO регулирует повреждения при ФД-воздействии. DAF-2DA показал себя как достаточно мощный инструмент для оценки продукции NO в нашем модельном объекте. Исследования такого рода дают возможность объективно оценивать изменение продукции NO под действием модуляторов различных сигнальных механизмов. Выявлено, что NO-синтаза локализуется в теле нейрона (околядерной области), а продукция NO и активность NO-синтазы при ФД-воздействии изменяется двухфазно, с резкой активацией и последующей инактивацией обоих процессов. Данные об активации NO-зависимых сигнальных механизмов могут быть использованы при оптимизации ФД-воздействия в клинической практике, в частности для разработки методов селективного разрушения злокачественных клеток при ФДТ опухолей мозга.

*Работа поддержана грантами РФФИ (14–04–00741 и 15–04–05367), а также Минобрразования РФ «Организация проведения научных исследований» № 790.*

---

## **АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА VEGF И НЕВЫНАШИВАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ**

*С.А. Коринфская, Т.А. Мараховская, К.Н. Сараев, Е.В. Машкина*

*Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: perf-333@rambler.ru*

Патологии беременности, проявляющиеся на ранних сроках и приводящие к самопроизвольным выкидышам, в том числе и к привычному невынашиванию беременности, могут быть вызваны такими факторами как: хромосомные аномалии, инфекции, гормональные расстройства, иммунологические факторы, тромбоцитарные нарушения в системе свертывания крови. Важной,

но малоизученной причиной таких заболеваний как привычное невынашивание беременности, тромботические осложнения у беременных, пре-эклампсия с задержкой внутриутробного развития являются однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) генов ростовых факторов. Такие факторы роста как VEGFA, EGF, TGF- $\beta$ , PlGF вносят огромный вклад в нормальное протекание беременности, особенно на ранних ее сроках. Нарушение экспрессии этих генов и структуры кодируемых ими белков может привести к различным патологиям развития плода и плаценты.

Факторы роста эндотелия сосудов (VEGF) продуцируются многими типами клеток, включая макрофаги, тромбоциты, кератиноциты, почечные мезангиальные клетки. Активность VEGF не ограничивается кровеносной системой; VEGF играют роль в таких физиологических функциях как формирование костной ткани, гемопоэз, заживление мелких ран.

VEGF играют исключительную роль в ангиогенезе плода и плаценты. При недостаточной экспрессии VEGF эмбрионы мыши *in utero* погибают в результате дефектного формирования сосудов. VEGF также участвует в созревании яйцеклетки и васкуляризации плода и плаценты на ранних этапах беременности. Васкуляризация хориональных ворсин влияет на развитие эмбриона – при спонтанных выкидышах наблюдается уменьшение уровня трофобластического плацентарного VEGF в децидуальном эндотелии.

Полиморфизмы в генах *VEGF* часто приводят к нарушениям продукции VEGF-белков, что является причиной многих мультифакторных заболеваний.

*VEGF* относится к высоко полиморфным генам. Связь между полиморфизмами *VEGF* и идиопатическим привычным невынашиванием беременности (ПНВ) неоднократно исследовалась для различных этнических групп. Например, ассоциация SNP -1154G/A (rs1570360) с идиопатическим ПНВ доказана для популяций американских, корейских, греческих женщин и не доказана для китайских. Данный SNP, относящийся к промоторному региону, ведет к снижению экспрессии *VEGFA*. Недостаток VEGFA в плазме приводит к нарушению ангиогенеза плаценты и плода и к нарушению процессов имплантации. Для гомозигот по -1154A аллели риск развития ПНВ особенно высок.

С этим же заболеванием ассоциируют следующие полиморфизмы: 936 C/T (rs302503), находящийся на 3'-нетранслируемом участке; -460T/C (rs833061) и +398G/A (rs833068); 405 C/G (rs2010963). Однако данные литературы противоречивы.

Целью данной работы было проанализировать ассоциацию полиморфных вариантов генов двух факторов роста с невынашиванием беременности первого триместра. Для молекулярно-генетического исследования использовали образцы ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови 134 женщин с невынашиванием беременности в первом триместре. Среди них – 69 женщин с неразвивающейся беременностью и 65 женщин со спонтанным абортom. В контрольную группу вошли 145 женщин с физиологически протекающей беременностью, у которых в анамнезе отсутствовали спонтанный аборт и/или неразвивающаяся беременность. Анализировали частоты генотипов и аллелей по полиморфным вариантам G-634C гена *VEGFA* и A2073T гена *EGRF*.

Установлено, что среди женщин со спонтанным прерыванием беременности в первом триместре увеличена по сравнению с контролем доля гомозигот по аллели -634C гена *VEGFA* (10,8 % и 4,1 % соответственно). Относительный риск спонтанного прерывания беременности у женщин с генотипом -634CC *VEGFA* составил 3,25 (1,08 – 9,79). Среди женщин с неразвивающейся беременностью в анамнезе частоты генотипов и аллелей по данному SNP не отличаются от контрольной группы. В клетках хорионической ткани различий в частотах генотипов и аллелей по полиморфизму G-634C гена *VEGFA* между исследуемыми группами образцов не выявлено.

Анализ частот генотипов по аллельным вариантам гена *EGRF* показал, что среди женщин вне зависимости от характера течения беременности преобладают гетерозиготы A2073T гена *EGRF* (48 – 58 %). Доля гомозигот по аллели 2073T гена *EGRF* наибольшая в группе женщин с неразвивающейся беременностью (33,8 %). Однако статистически значимых различий между анализируемыми группами женщин не выявлено. Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфизму A2073T гена *EGRF* в клетках зародышевого происхождения не отличается от такового для клеток крови беременных женщин.

Таким образом, установлено, что генотип -634CC гена *VEGFA* ассоциирован с повышенным риском спонтанного прерывания беременности в первом триместре.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект 6.98.2014/К).*

---

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОРОТКИХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ВЕРТИКАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И БЫСТРОТЫ РЕАКЦИИ БОРЦОВ**

***А.В. Лысенко, А.С. Датченко***

*Южный федеральный университет, Академия физической культуры и спорта, 344065, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Днепроvский, 116  
E-mail: [alysenko@sfedu.ru](mailto:alysenko@sfedu.ru)*

Учитывая важную роль координационных способностей, вестибулярной устойчивости и быстроты реакции в совершенствовании спортивного мастерства дзюдоистов. Целью работы стала оптимизация вышеперечисленных профессионально-значимых качеств борцов с использованием коротких пептидов.

Известно, что короткие пептиды из 3–4 аминокислот способны взаимодействовать с ДНК. Низкая молекулярная масса позволяет таким пептидам беспрепятственно проникать в поврежденные ткани, в клетках которых пептиды стимулируют выработку необходимого количества активных веществ в нужном биологическом ритме, в зависимости от индивидуальных потребностей организма, и запускают процессы саморегуляции, восстанавливая нормальную функцию поврежденных тканей. Способность коротких пептидов действовать на молекулярно-генетическом уровне представляется перспективным с точки зрения сохранения здоровья высококвалифицированных спортсменов и продления их профессионального долголетия, так как в последнее время спорт высших достижений превратился, по мнению некоторых специалистов, в своеобразный полигон для испытания двигательных и адаптационных возможностей человека в условиях, близких к экстремальным.

В нашем обследовании участвовали две группы спортсменов (юноши в возрасте 19–26 лет), специализация дзюдо. Первая группа – контрольная, вторая группа – экспериментальная, члены которой в течение 15 дней использовали пептидный препарат пинеалон в качестве биологически активной добавки к пище (в виде капсул по 100 микрограмм). СтатокINETическую устойчивость, степень утомления, быстроту реакции и степень снижения функциональных резервов организма определяли по величине уменьшения показателя качества функции равновесия (КФР) с использованием методики «допусковый контроль» на стабиланализаторе «Стабилан-01» (ОКБ «Ритм», Таганрог). В программе «Допусковый контроль» проводится три функциональных пробы Ромберга: с открытыми глазами, в таком положении ведущие афферентные каналы (зрительный, проприоцептивный и вестибулярный) работают со своими естественными приоритетами и внутренними обратными связями; с закрытыми глазами, что соответствует блокированию биологической обратной связи зрительной модальности и повышает нагрузки на остальные афферентные каналы; в пробе «Мишень», когда испытуемый с помощью перемещения в пространстве центра тяжести своего тела (стоя на стабилоплатформе и не перемещаясь по ней) удерживает постоянно перемещающийся красный квадрат в центре мишени, изображенной на экране в течение определенного времени – это самое сложное задание, позволяет оценить степень согласованности работы всех систем организма и быстроту реакции на движущийся объект.

Равновесие – это одно из основных двигательных-координационных качеств, уровень развития которого может служить индикатором двигательных способностей и адаптированности к нагрузкам. Как показали полученные нами результаты, у всех дзюдоистов, не принимавших пинеалон до тренировки, в стабильнографической пробе при закрывании глаз произошло умеренное снижение (на 16 %) устойчивости по сравнению с показателями при открытых глазах. Данные литературы свидетельствуют о том, что выключение зрительной информации ведет к снижению устойчивости вертикальной позы человека, однако это снижение у спортсменов регистрируется в меньшей степени, чем у неспортсменов, причем степень снижения обратно пропорциональна спортивному мастерству и прямо пропорциональна риску травмирования.

Показатель КФР, измеренный при открытых глазах после тренировки значительно ухудшался (на 34 % по сравнению с показателем до тренировки,  $p < 0,05$ ), причем смещение значения КФР в интервал 45–69 % свидетельствует об умеренном снижении устойчивости, которое на данном этапе протекает бессимптомно. Необходимо отметить, что при выполнении после тренировки пробы с закрытыми глазами показатель КФР снижался до значений (41,58), которые соответствовали выраженному ухудшению координации движений и устойчивости. Более детальный анализ результатов, полученных в пробе «Мишень», показал, что качество функции равновесия после тренировки ухудшалось, причем существенным является именно время пребывания в различных зонах «Мишени»: в «наихудших» для координации зонах с 1-й по 6-ю дзюдоисты до тренировки проводили меньше времени, отведенного на тест, в зонах 7–10 – наибольшую часть времени.

При использовании пептидного препарата пинеалон в качестве биологически активной добавки к пище качество функции равновесия достоверно улучшилось до и после тренировки в пробах с открытыми и закрытыми глазами и в пробе «Мишень», что позволяет говорить об эффективности такой рационализации питания с целью профилактики утомления и совершенствования профессионально-значимых качеств дзюдоистов. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о перспективах внедрения инновационных достижений молекулярной биомедицины в фармакологическое сопровождение высококвалифицированных спортсменов.

---

## СПЕКТР МУТАЦИЙ ГЕНА *MEFV* СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

*О.В. Лянгасова, А.Н. Мальцева, З.Г. Попова, Е.В. Машкина*

*Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону,  
пр. Стачки, 194/1  
E-mail: oll@sfnedu.ru*

Семейная средиземноморская лихорадка является распространенным заболеванием среди жителей Средиземноморья, а также на территории Ростовской области. Особенности клинического течения заболевания могут быть обусловлены разными мутациями гена *MEFV*. Целью нашей работы было изучение спектра мутаций гена *MEFV* среди жителей Ростовской области.

В исследовании приняли участие 127 жителей Ростовской области с диагнозом периодическая болезнь и имеющие родственников с данным заболеванием. Среди пациентов было 64 женщины и 63 мужчины в возрасте от 4 до 88 лет. Материалом для исследования послужили образцы крови. Секвенирование экзона 10 гена *MEFV* было выполнено на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems).

В результате исследования у 81 пациента выявлено 6 мутаций в экзоне 10 гена *MEFV*: *M694V* – 29,92 %, *V726A* – 10,63 %, *M680I* – 8,27 %, *R761H* – 3,94 %, *A744S* – 0,39 %, *K695R* – 0,39 % (рис.). Отсутствие мутаций в экзоне 10 гена *MEFV* выявлено в 46,46 % случаев.

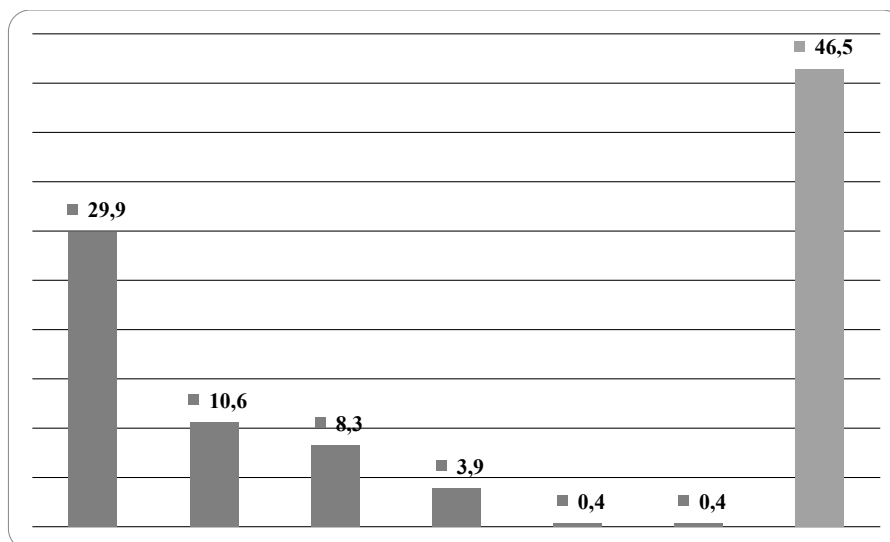


Рис. Распределение частот аллельных вариантов гена *MEFV* среди обследованных жителей Ростовской области

Среди пациентов с мутациями в экзоне 10 гена *MEFV* был проведен анализ их генотипов (табл.).

Таблица

**Распределение частот генотипов среди пациентов с мутациями в экзоне 10 гена *MEFV***

Тип генотипа	Генотип	Кол-во человек	% от общего кол-ва
Компаунд-гетерозиготы	<i>M694V / V726A</i>	12	14,81
	<i>M680I / M694V</i>	11	13,58
	<i>M680I / V726A</i>	4	4,94
	<i>M680I / R761H</i>	2	2,47
	<i>M694V / K695R</i>	1	1,23
	<i>M694V / R761H</i>	1	1,23
	<i>V726A / R761H</i>	1	1,23
	Всего	32	39,50 ± 8,64
Гетерозиготы	<i>M694V / N</i>	19	23,46
	<i>V726A / N</i>	6	7,41
	<i>A744S / N</i>	1	1,23
	Всего	26	32,10 ± 9,16
Гомозиготы	<i>M694V / M694V</i>	16	19,75
	<i>R761H / R761H</i>	3	3,70
	<i>V726A / V726A</i>	2	2,47
	<i>M680I / M680I</i>	2	2,47
	Всего	23	28,40 ± 9,40
Итого:		81	100

Как видно из таблицы, у пациентов с мутациями в экзоне 10 гена *MEFV* чаще всего, в 39,5 % случаев, встречаются мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии; в 32,1 % случаев – мутации в гетерозиготном состоянии; реже всего встречаются мутации в гомозиготном состоянии – в 28,4 % случаев.

Работа выполнена в рамках базовой части внутреннего гранта ЮФУ в 2015 по проекту 213.01–2015/003ВГ «Изучение ДНК-элементов некодирующих белок в структуре различных геномов»

# ИНДУКЦИЯ МУТАЦИЙ У ДРОЖЖЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДИОКСИДИНА

*М.С. Мазанко, Е.В. Празднова, М.Н. Чурилов, В.А. Чистяков*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: Mary.bio@list.ru; prazdnova@sfedu.ru; charchangel@gmail.com; vladimirchi@ya.ru*

В современном мире применение антимикробных препаратов в медицине, производстве и сельском хозяйстве увеличивается с каждым годом. Вместе с ним растет и количество микроорганизмов, обладающих резистентностью к одному или нескольким препаратам. Наиболее остро проблема резистентности стоит для бактерий: уже известны мультирезистентные штаммы, практически не поддающиеся лечению антибиотиками [1]. Однако резистентность патогенных грибов, особенно патогенных штаммов дрожжей рода *Candida* также является проблемой в лечении многих инфекций [2].

Важной задачей в противостоянии резистентности микроорганизмов является контроль появления новых устойчивых штаммов бактерий и грибов. Многие лекарственные препараты, применяемые в настоящее время в медицине, имеют мутагенный эффект [3–5]. Применение подобных препаратов в терапии способно вызвать мутации имеющейся у человека микрофлоры, в том числе привести к появлению резистентных штаммов.

Для того чтобы проверить нашу точку зрения, мы провели следующее исследование.

В качестве модельного организма был использован гаплоидный штамм непатогенных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* W303. В качестве лекарства-мутагена был выбран диоксидин в концентрации 5 мг/мл. Данная концентрация соответствует концентрации лекарственной формы диоксидина, применяемой в медицине. В качестве положительного контроля был использован N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидин (MNNG) в концентрации  $10^{-3}$  М/л. Дрожжи инкубировали двое суток на жидкой среде YPD с добавлением индуктора мутагенеза на шейкере при температуре 25 °С. После инкубации дрожжи высевали на твердую YPD (AYPD), содержащую 64 мг/мл флуконазола. Согласно протоколу M-44P NCCLS дрожжи, растущие на такой концентрации флуконазола, следует считать устойчивыми к данному препарату [6].

Уровень спонтанного мутагенеза составил для дрожжей штамма W303  $5,3 \cdot 10^{-3}$  клеток. Уровень индуцированного мутагенеза в присутствии диоксидина был значительно больше –  $1,9 \cdot 10^{-2}$  клеток, при выживаемости 2,7 %. Инкубация дрожжей с MNNG (являющимся положительным контролем), привела к увеличению уровня индуцированного мутагенеза до  $1,2 \cdot 10^{-2}$  клеток, что сопоставимо со значениями, полученными для индуцированного мутагенеза под действием диоксидина. При этом уровень выживаемости дрожжей был значительно выше – 71 %.

Из предложенных данных можно сделать вывод, что диоксидин является лекарством-мутагеном, способным привести к появлению штаммов, резистентных к флуконазолу. При этом его мутагенная активность ниже, чем у сильных мутагенов, подобных MNNG.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Livermore D.M. The need for new antibiotics // *Clinical Microbiology and Infection*. 2004. Т. 10. № s4. С. 1–9.
2. Веселов А.В., Клишко Н.Н., Кречикова О.И., Клясова Г.А., Агапова Е.Д., Мултых И.Г., & Козлов Р.С. In vitro активность флуконазола и вориконазола в отношении более 10000 штаммов дрожжей: результаты 5-летнего проспективного исследования ARTEMIS Disk в России // *Клин. микробиол. антимикроб. химотер.* 2008. № 10(4). С. 345–354.
3. Сычева Л.П., Коваленко М.А., Шереметьева С.М. и др. Изучение мутагенного действия диоксидина полиорганным микроядерным методом // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2004. Т. 138. №. 8. С. 188–190.

4. Aly M.S. et al. Genotoxicity and cytotoxicity of the anticancer drugs gemcitabine and cisplatin, separately and in combination: in vivo studies // J. Biol. Sci. 2003. Vol. 3. № 11. P. 961–972.
5. Ototoxicity. Ed. by P.S. Roland, J.A. Rutka. Hamilton: PMPH–USA, 2004. 221 p.
6. Balows A. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. 2000. 143 p.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Образования РФ и Министерства здравоохранения РФ, проект № 6.1202.2014/К.*

---

## **КАРНОЗИН ПРЕДОТВРАЩАЕТ РОСТ МЕТГЕМОГЛОБИНА, ВЫЗВАННЫЙ АКРОЛЕИНОМ В ОПЫТАХ *IN VITRO* НА ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ НАРУШЕНИЯМИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ**

***М.Г. Маклецова<sup>1</sup>, Г.Т. Рихирева<sup>2</sup>, Т.Н. Федорова<sup>1</sup>, М.Ю. Максимова<sup>1</sup>, М.Ю. Вакуленко<sup>3</sup>***

<sup>1</sup> *Научный центр неврологии, 125367, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., 80*

<sup>2</sup> *Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, 4*

<sup>3</sup> *Ростовский государственный медицинский университет, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29*

*E-mail: mgm52@bk.ru*

Карнозин – природный антиоксидант, способный предотвращать развитие окислительного стресса (ОС), который играет ведущую роль в патогенезе острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК). Одним из наиболее токсичных продуктов окислительной модификации липидов является акролеин. В то же время известно, что рост активных форм кислорода в условиях действия нейротоксинов может вызывать MetHb, что также приводит к ОС и побочным эффектам, связанным со вторичной тканевой гипоксией.

Целью работы явилась оценка влияния карнозина на рост метгемоглобина (MetHb), вызванный акролеином в эритроцитах пациентов с ОНМК в опытах *in vitro*.

В исследование включены 15 больных с ОНМК, которые находились на лечении во 2-м неврологическом отделении ФГБНУ НЦН. В качестве контрольной группы были обследованы 12 практически здоровых лиц, соответствующих основной группе по возрасту и полу.

Определение содержания MetHb в эритроцитах проводили с помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) по интенсивности сигнала ЭПР с g-фактором в области 6.0, а также спектрофотометрически при длине волны 630 нм. Эритроциты (Э) выделяли из крови больных общепринятым методом. Схема эксперимента: 1 – контроль, инкубация Э в течение 1 ч при *t* комн.; 2 – инкубация Э с 100 мкМ акролеина 1 ч; 3 – инкубация Э с 100 мкМ акролеина 1 ч с последующим добавлением 5 мМ карнозина (1 ч); 4 – инкубация Э с 5 мМ карнозина 1 ч и последующее добавление 100 мкМ акролеина (1 ч); 5 – инкубация Э с 5 мМ карнозина 1 ч

Исходное содержание MetHb в Э больных с ОНМК не превышало его значение по сравнению с донорами. Инкубация Э больных с ОНМК со 100 мкМ акролеина приводила к увеличению содержания MetHb в 15 раз по сравнению с исходным уровнем MetHb у больных. Инкубация Э доноров со 100 мкМ акролеина приводила к незначительному увеличению содержания MetHb – в 1,5 раз по сравнению с исходным уровнем MetHb у пациентов. Предварительное инкубация Э больных с ОНМК с 5 мМ карнозина и последующим добавлением 100 мкМ акролеина (профилактическое введение карнозина) снижало содержание MetHb в 2 раза по сравнению с его содержанием в Э, инкубированных со 100 мкМ акролеина; аналогичная картина наблюдалась



при введении 5 мМ карнозина после 1 ч инкубации со 100 мкМ акролеина (терапевтическое введение карнозина).

Таким образом, инкубация Э с акролеином индуцировала значительный рост содержания MetHb. Как профилактическое, так и терапевтическое, введение карнозина способствовало снижению содержания MetHb до его исходного уровня. Можно полагать, что защитное действие карнозина обусловлено его способностью стабилизировать мембраны Э, тем самым препятствуя гемолизу Э и/или его способностью хелатировать ионы двухвалентного железа в условиях патологических процессов, вызванных акролеином. Исходя из полученных данных, целесообразно введение карнозина в базовую терапию ОНМК с целью снижения побочных эффектов метгемиинообразования в условиях токсического действия акролеина.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00829.*

---

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ 8-ОКСО-2'-ДЕЗОКСИГУАНОЗИНА КАК БИОМАКЕРА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ПАТОЛОГИИ И ПРОВЕРКЕ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

***Н.В. Мармий, Д.С.Есипов, Т.С Невредимова, К.А. Кулигина,  
Д.С. Налобин, М.Б. Чернышева***

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет,  
119234, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12  
E-mail: marmiyv@gmail.com; eds123@mail.ru*

Окислительные процессы играют огромную роль в физиологии и биохимии всех аэробных организмов. Однако они таят в себе немалую опасность, так как сопровождаются генерацией активных форм кислорода (АФК) – соединений, способных вступать в реакцию с биомолекулами, повреждая их. Для предотвращения этого существует сложная система антиоксидантной защиты, включающая специализированные ферменты и низкомолекулярные соединения. А также, по всей видимости, не менее сложная, но малоизученная, система регуляции, обеспечивающая адекватный ответ антиоксидантных комплексов на выбросы радикалов. Одним из кандидатов на главные роли среди регуляторов является мелатонин – гормон эпифиза. Периодически появляются публикации, описывающие его протекторные, адаптогенные и антиоксидантные свойства.

К сожалению, иногда защитные системы не справляются. И тогда возникает то, что принято называть окислительным стрессом, который сопровождает большинство серьезных заболеваний – рак, все воспалительные и аутоиммунные процессы, болезни Альцгеймера и Паркинсона, сердечно-сосудистые патологии, травмы и послеоперационный период. Для ранней диагностики всех этих состояний и оценки эффективности лекарств полезны биомаркеры окислительного стресса. На настоящий момент одним из таковых является 8-оксо-2'-дезоксигуанозин (8-охо-dG). Он образуется в результате окислительного повреждения ДНК, которая неплохо защищена от радикалов оболочками ядра и гистонами. Потому повышение его содержания однозначно указывает на стресс, когда АФК настолько много, что и эти преграды не спасают. С другой стороны, 8-охо-dG подвергается репарации, т.е. на устранение стрессора он быстро отвечает снижением концентрации.

Целью нашей работы являлось выявление влияния мелатонина на окислительные процессы *in vivo* и *in vitro* с использованием 8-охо-dG в качестве маркера окислительного статуса.

Эксперимент *in vivo* проводился на модели индуцированного цирроза печени у лабораторных мышей-самцов линии C<sub>57</sub>Bl/СВА. Для индукции цирроза был использован масляный раствор четыреххлористого углерода с внутривнутрибрюшинным введением. В эксперименте присутствовали все необходимые контроли (интактный, инъекция масла, мелатонин на здоровых животных) и две опытные группы – «чистый цирроз», вызванный четыреххлористым углеродом и «лечение» – на фоне введения токсического агента давали мелатонин с питьем. Оценивалось развитие цирроза гистологически, а содержание маркера окислительного статуса – 8-охо-dG в ДНК печени мышей – хроматографически с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией [1].

Эксперимент *in vitro* был выполнен на модели окисления 2'-дезоксигуанозина в условиях реакции Фентона, протекающей в водном растворе в присутствии аскорбиновой кислоты, сульфата железа, перекиси водорода и кислорода воздуха [2].

По итогам экспериментов выяснилось, что мелатонин вызывает статистически достоверное снижение уровня окислительного стресса и гистологической выраженности признаков цирроза у подопытных животных. Увеличение содержания 8-охо-dG в ДНК печени мышей хорошо коррелировало с развитием гистологической картины цирроза. В модели *in vitro* добавление мелатонина приводит к значительному снижению образования 8-охо-dG.

Таким образом, эксперименты подтверждают версии об антиоксидантном и протекторном эффектах мелатонина в условиях окислительного стресса. А также показывают возможность использования 8-охо-dG в качестве биомаркера развития цирроза печени, а системы окисления dG в условиях реакции Фентона – в качестве модельной для оценки антиоксидантных свойств лекарственных препаратов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Есипов Д.С., Сидоренко Е.В., Есипова О.В., Горбачева Т.А., Невредимова Т.С., Крушинский А.Л., Кузнецов В.С., Реутов В.П. Определение отношения 8-оксо-2-дезоксигуанозина к 2-дезоксигуанозину в ДНК с помощью обращено-фазовой ВЭЖХ в сочетании с амперометрической детекцией // Вестник МИТХТ. 2010. Т. 5. № 3, С. 69–74.
2. Мармий Н.В., Невредимова Т.С., Есипов Д.С. Влияние мелатонина на образование 8-оксо-2'-дезоксигуанозина в условиях реакции фентона // Тонкие химические технологии. 2015. Т. 10. № 1.

---

## БОРДИПИРРОМЕТЕНЫ КАК ОСНОВА МАТЕРИАЛА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ КИСЛОРОДА В ГАЗОВОЙ ФАЗЕ И ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

*Е.Г. Мартьянова, Р.Т. Кузнецова, Ю.В. Аксёнова*

*Томский государственный университет, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36  
E-mail: erm.phch@gmail.com*

Быстрое измерение концентрации кислорода и углекислого газа в выдыхаемом человеком воздухе является одной из фундаментальных задач терапевтической и диагностической медицины [1]. Знания о протекании биохимических процессов в организме здорового человека и об их нарушениях при тех или иных заболеваниях открывают широкие перспективы применения дыхательного теста для диагностики, особенно ранней диагностики, когда клинически заболевание еще не проявляется [2]. Анализ концентрации кислорода в выдыхаемом воздухе (часто в комплекте с другими анализами) может дать мгновенную информацию о состоянии здоровья пациента.

Для анализа содержания кислорода в газовой фазе чаще всего применяются электрохимические, парамагнитные, масс- и Раман-спектроскопические типы сенсоров. Оптические сенсоры имеют ряд преимуществ по сравнению с вышеперечисленными: время отклика сенсора на поступление аналита минимально, приборы недороги и легко миниатюризируются. Действие оптического сенсора кислорода основано на явлении тушения фосфоресценции органического красителя в присутствии молекулярного кислорода. В качестве фосфоресцирующих органических красителей в оптических сенсорах кислорода используют комплексы переходных металлов, полициклические ароматические углеводороды, комплексы порфиринов с платиной и палладием. В данной работе показана возможность использования в качестве фосфоресцирующего красителя бордипирролилметена (рис.1), имеющего значительные конкурентные преимущества перед другими органическими красителями [3].

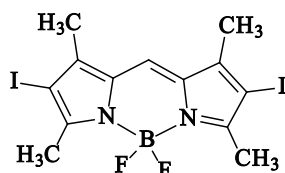


Рис. 1. Структура исследуемого соединения – дийодбордипиррометена  $I_2BODIPY$

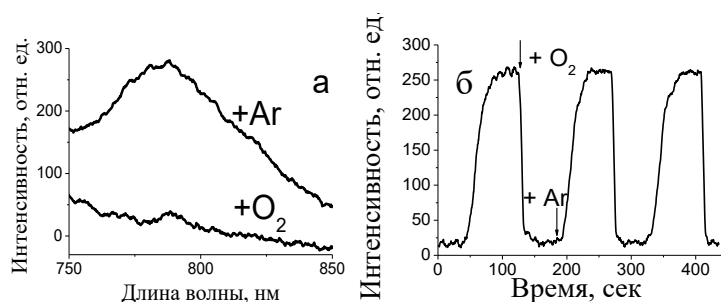


Рис. 2. Спектры люминесценции  $I_2BODIPY$  в матрице на основе метилцеллюлозы в атмосфере аргона и кислорода при  $\lambda_{возб} = 520$  нм для образца, пропитанного  $10^{-4}$  М раствором  $I_2BODIPY$  (а); типичные изменения в интенсивности фосфоресценции (790 нм) при возбуждении светом длиной волны 520 нм для образца, пропитанного  $10^{-3}$  М раствором  $I_2BODIPY$  (б)

Спектр фосфоресценции  $I_2BODIPY$  при 77 К представлен полосой при 790 нм. Образцы из метилцеллюлозы, пропитанные раствором  $I_2BODIPY$  в атмосфере аргона демонстрируют фосфоресценцию (рис. 2, а), исчезающую при введении кислорода в газовую кювету. Типичные изменения интенсивности фосфоресценции при переключении между чистым аргоном и чистым кислородом показаны на рисунке 2, б.

Чувствительность приготовленных образцов, определяемая как отношение  $I_0/I_{100}$ , где  $I_0$  – интенсивность фосфоресценции в 100 %-ном аргоне и  $I_{100}$  – в 100 %-ном кислороде, достигает 17,6. С использованием представленного материала возможно определение концентрации кислорода в диапазоне  $2,3 \times 10^{-4}$  –  $4,5 \times 10^{-2}$  М (0,5–100 %).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Albrecht H. Clinical and respiration gas analysis // Sensors: a Comprehensive Survey. Ed. by W. Gbpel, J. Hesse, J.N. Zemel. Vol.3. VCH, Wiley, 1992. P. 1047–1093.
2. Phillips M. Breath test in medicine // Scientific American. 1992. Vol. 267. P. 74–79.
3. Ermolina E.G., Kuznetsova R.T., Aksenova Yu.V. Novel quenchometric oxygen sensing material based on diiodine-substituted boron dipyrromethene dye // Sensors and Actuators B: Chemical. 2014. Vol. 197. P. 206–210.

Работа поддержана грантами РФФИ 14–03–31023-мол\_а и Стипендией Президента РФ СП-6667.2013.4

# АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА GLY482SER ГЕНА PPARGC1A С НАРУШЕНИЕМ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ ПОДРОСТКОВ

*А.В. Миктадова, Е.В. Машкина, М.А. Гельдибаева*

*Южный федеральный университет, Научно-исследовательский институт биологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: trans-kript@mail.ru*

Вопросы диагностики и выявления причин нарушения репродуктивной функции относятся к числу актуальных проблем современной биологии и медицины. Метаболические пути, контролируемые энергетический баланс организма и функционирование репродуктивной системы, взаимосвязаны и взаимозависимы. Одним из примеров этого является корреляция между ожирением и угнетением репродуктивной функции человека. У мужчин с индексом массы тела более 25 изменяются количественные и качественные показатели спермы. Снижается уровень тестостерона при одновременном повышении уровня эстрадиола и фолликулстимулирующего гормона. Важную роль в развитии метаболического синдрома играют мутации генов рецепторов активации пролиферации пероксисом. Они кодируют белки, которые специфически связываются с промоторами генов жирового и углеводного обменов и регулируют их транскрипцию [1].

Основная функция белка PPARGC1 $\alpha$  – регуляция энергетического гомеостаза, а также веса тела посредством регуляции экспрессии генов, вовлеченных в пероксисомное и митохондриальное окисление. При физических нагрузках аэробного характера происходит увеличение утилизации жирных кислот за счет повышения экспрессии гена *PPARGC1A* и каскада регулируемых им генов, что в итоге улучшает окислительную способность скелетных мышц [2]. *PPARGC1A* экспрессируется в тех тканях, где происходит усиленный катаболизм жиров для получения большого выхода энергопродукции – в скелетных мышцах, в миокарде, в буром жире, в почках, в меньшей степени в головном мозге, поджелудочной железе. Наличие полиморфного варианта гена *PPARGC1A* приводит к снижению уровня его экспрессии, уменьшению интенсивности окислительных процессов и митохондриального биогенеза, ожирению у мужчин, которые ведут неактивный образ жизни [3, 4].

Целью работы было исследование частоты полиморфизма Gly482Ser гена *PPARGC1A* у мальчиков околопубертатного возраста в зависимости от массы тела и стадии полового созревания. В исследовании приняли участие 367 мальчиков в возрасте от 11–15 лет, проживающих в г. Ростове-на-Дону.

Анализ частот генотипов и аллелей по полиморфизму Gly482Ser гена *PPARGC1A* среди мальчиков 11–12 лет с различной массой тела (без учета стадии полового созревания) показал, что у мальчиков с нормальным весом и дефицитом веса преобладают гомозиготы по аллели Gly482. Гомозигот по аллели 482Ser у мальчиков с дефицитом веса не выявлено. Частота аллели 482Ser гена *PPARGC1A* наименьшая в группе подростков с дефицитом веса. Среди мальчиков с избыточным весом увеличена доля гетерозигот по полиморфизму Gly482Ser, а также гомозигот по аллели 482Ser гена *PPARGC1A*. Данные различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ( $\chi^2=7,18$ ;  $P=0,03$ ). Частота аллели 482Ser гена *PPARGC1A* в подгруппе мальчиков с ожирением статистически значимо выше по сравнению с двумя другими подгруппами мальчиков 11–12 лет ( $\chi^2=5,81$ ;  $P=0,02$ ).

В группе мальчиков 13–15 лет с различной массой тела (без учета стадии полового созревания) полиморфизм Gly482Ser не ассоциирован с изменением массы тела подростков. Таким образом, нельзя сделать однозначный вывод о наличии или отсутствии ассоциации полиморфизма Gly482Ser гена *PPARGC1A* с изменением массы тела подростков в околопубертатный период.

Отклонения индекса массы тела от возрастной нормы может быть связано с нарушением процессов полового созревания. Среди мальчиков 11–12 лет с нормальным темпом полового развития и нормальным весом более 70 % являются гомозиготами по аллели Gly482 гена

*PPARGC1A*. В то же время среди мальчиков с ожирением 76 % являются гетерозиготами по полиморфизму Gly482Ser гена *PPARGC1A*. Различия в частотах генотипов и аллелей по исследуемому полиморфизму статистически значимы ( $\chi^2=17,45$ ;  $P=0,0002$ ,  $\chi^2=14,7$ ;  $P=0,0001$ ). Таким образом, полиморфный вариант гена *PPARGC1A* ассоциирован с формированием избыточной массы тела у подростков в допубертатный период при нормальном темпе процессов полового созревания.

Статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей по полиморфизму Gly482Ser гена *PPARGC1A* в подгруппах мальчиков 13–15 лет с нормальным половым созреванием в зависимости от веса не выявлено. Среди подростков, отстающих в половом развитии и характеризующихся отклонением массы тела от нормальных показателей, различий в частотах генотипов и аллелей по полиморфизму Gly482Ser гена *PPARGC1A* между подгруппами мальчиков не выявлено.

Таким образом, в проведенном исследовании было выявлено наличие ассоциации полиморфизма Gly482Ser гена *PPARGC1A* с отклонением массы тела от нормальных показателей при нормальном темпе созревания половой системы мальчиков 11–12 лет, но не среди мальчиков 13–15 лет.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Desvergne B., Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism // *Endocr. Rev.* 1999. Vol.20. P.649–688.
2. Russell A.P., Feilchenfeldt J., Schreiber S., Praz M., Crettenand A., Gobelet C., Meier C.A., Bell D.R., Kralli A., Giacobino J.P., Deriaz O. Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  in skeletal muscle // *Diabetes.* 2003. Vol. 52. P. 2874–2881.
3. Баранов В.С. Гены – кандидаты мышечной силы // *Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины.* 2009. С. 406–412.
4. Потулова С.В., Глотов О.С., Баранов В.С. Анализ полиморфизма генов IGF-1 и PGC-1, участвующих в энергетическом обмене, в двух возрастных группах населения Санкт – Петербурга // *Экологическая генетика.* 2009. Т. 7. № 1. С. 12–14.

*Работа выполнена в рамках НИР № 1878 в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию № 2014/174.*

---

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ ЭКЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ДНК У БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКИХ

**В.И. Минина<sup>1,2</sup>, М.Л. Баканова<sup>1</sup>, А.В. Рыжкова<sup>1</sup>, Р.А. Титов<sup>1</sup>, Ю.А. Кулемин<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт экологии человека СО РАН, 650065, Российская Федерация, г. Кемерово, пр. Ленинградский, 10

<sup>2</sup>Кемеровский государственный университет, 650043, Российская Федерация, г. Кемерово, ул. Красная, 6

E-mail: vminina@mail.ru

Рак легких является одним из самых распространенных онкологических заболеваний как в России, так и во всем мире. В качестве ведущей причины формирования данного заболевания называют высокую индивидуальную чувствительность к действию табачного дыма или других канцерогенов атмосферного воздуха. Среди разнообразных маркеров индивидуальной чувст-

вительности особое внимание привлекают SNP в генах эксцизионной репарации оснований и нуклеотидов (системы BER и NER). Результаты ассоциативных исследований, проводившихся в различных популяциях мира оказались противоречивы и требуют верификации.

Целью данной работы явилось изучение полиморфизма генов эксцизионной репарации оснований: ADPRT (PARP1)2285 T>Crs1136410; APEX1444 T>Grs1130409; XRCC1 839 G>Ars25489 и эксцизионной репарации нуклеотидов: XPD T2251G rs13181; XPG (ERCC5)3310 G>Crs17655; XPC2815 A>Crs2228001 у жителей России, больных раком легких.

Было обследовано 215 больных плоскоклеточным раком легких (ПлРЛ), поступивших на лечение в Кемеровский областной онкологический диспансер. Критериями включения пациентов в исследуемую группу были: точно выверенный специалистами онкологического диспансера диагноз ПлРЛ, русская национальность, проживание в г. Кемерово (Западная Сибирь, Россия). Средний возраст пациентов 59,7 лет. В качестве группы контроля были обследованы 220 русских здоровых жителей г. Кемерово близкого возраста (56,7 лет). Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ИЭЧ СО РАН. Все обследованные подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь, забирившаяся из локтевой вены в асептических условиях. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием метода фенол-хлороформной экстракции. Для типирования полиморфизма генов использовали коммерческую тест-систему «SNP-express» (НПФ «Литех», г. Москва). ПЦР проводили на амплификаторах ТЕРЦИК (НПФ «ДНК-Технология», Россия) по программе, рекомендованной производителем набора. Статистическую обработку проводили средствами программы StatSoftStatistica 6.0 и онлайн ресурса SNPstat (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>)

Распределение частот генотипов изученных локусов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга и соответствовало данным литературы, полученным в популяциях европеоидов. Статистически значимое отличие частоты встречаемости генотипов и аллелей между группами больных ПлРЛ и здоровых было получено по локусам XPD T2251G и ADPRT 2285 T>C. Однако после введения поправки на множественность сравнений (поправка Бонферрони  $0,05/6=0,008$ ) ассоциация локуса ADPRT 2285 T>C с развитием болезни становилась незначимой. Для выявления ассоциации локуса XPD T2251G с развитием заболевания выполнялся расчет отношения шансов (OR) для 5 моделей наследования (кодминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная, лог-аддитивная) с учетом количественных и бинарных признаков (пол, возраст, статус курения). Наиболее значимая модель представлена в таблице.

Таблица

**Ассоциация полиморфного локуса XPD T2251G (rs13181) с развитием ПлРЛ с учетом основных конфаундеров**

Модель	Генотип	ПлРЛ	Контроль	OR (95 % CI)	P*	AIC	rHWE
Dominant	T/T	60 (27,9 %)	91 (41,4 %)	1,00	0,005	366,0	0,23
	T/G-G/G	155 (72,1 %)	129 (58,6 %)	0,46 (0,26–0,80)			

**Примечание.** Представлены только наиболее значимые модели наследования; \* p value с учетом курения, возраста, пола; rHWE – равновесие Харди-Вайнберга; AIC – информационный критерий Акайке.

Известно, что ген XPD/ERCC2 (excision repair cross complementing rodent repair deficiency, complementation group 2 [xeroderma pigmentosum D]) локализован на хромосоме 19q32.2 и кодирует фермент хеликазу (5'→3'), участвующую в эксцизионной репарации нуклеотидов. Замена нуклеотидов T2251G меняет конфигурацию белка, может влиять на его взаимодействие с хеликазным активатором p44 и ассоциирована с уменьшением репаративной способности. Протективная значимость мажорного генотипа T/T гена XPD, выявленная в данном исследовании, вполне согласуется с данными функциональными эффектами.

# АКТИВНОСТЬ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ В ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ СОСУДОВ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

*Е.С. Михайличенко, Л.И. Кардашевская*

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, 83000, Украина, г. Донецк,  
пр. Ильича, 16  
e-mail: klassiki@inbox.ru*

Экспрессия компонентов тканевой РАС значительно возрастает при артериальной гипертензии (АГ) и ассоциированных с ней состояниях независимо от активности циркулирующей ренин-ангиотензиновой системы (РАС).

Целью работы являлось сравнить активность тканевой РАС на основании оценки уровня экспрессии рецептора ангиотензина II 1-го типа (AT1R) в гладкомышечных клетках сосудов (ГМКС) интактных и пораженных атеросклерозом артерий у пациентов с АГ и очень высоким кардиоваскулярным риском (КВР).

Исследованы 31 резецированная артерия среднего калибра. Первую группу составили 17 артерий пациентов с атеросклеротическим поражением сосудов нижних конечностей, полученных во время реконструктивных операций. Вторую группу составили 14 неповрежденных маммарных артерий, взятых в ходе операции аортокоронарного шунтирования у пациентов с многососудистым поражением коронарного русла. Значимых различий между группами по полу, возрасту, выраженности АГ, наличию коморбидных заболеваний (сахарного диабета, ожирения и т.д.) не было. AT1R, локализованные в ГМКС, определяли иммуногистохимически со специфическими поликлональными антителами к AT1R. В каждом случае ИГХ-исследования экспрессию маркера Anti-AGTR1 в виде цитоплазматического или мембранного окрашивания коричневого цвета изучали в 30 полях зрения при увеличении  $\times 200$ . Интенсивность окрашивания AT1R в мышечном слое артерий оценивали полуколичественно по проценту позитивных клеток согласно 3-уровневой шкале: «-» – отрицательный (отсутствие позитивно окрашенных клеток); «+» – очаговая, или слабая экспрессия (<50 % позитивных клеток); «++» – диффузная, или сильная позитивная реакция (>50 % позитивных клеток).

В обеих группах получили схожие результаты. В 1-й группе в 8 артериях (47,05 %) наблюдалась слабая (+) экспрессия AT1R, в других 8 артериях экспрессия AT1R (47,05 %) была выраженной (++) , в 1 случае (5,9 %) экспрессия AT1R отсутствовала (-). Во 2-й группе слабая (+) экспрессия AT1R наблюдалась в 7 случаях (50 %), сильная (++) экспрессия AT1R – в 7 других случаях (50 %). Таким образом, выраженная тканевая экспрессия AT1R наблюдалась примерно в 50 % случаев, при этом она не зависела от исследуемого сосудистого русла (пораженного атеросклерозом или непораженного).

Результаты исследования позволяют сделать вывод, что активность тканевой РАС возрастает неоднородно среди пациентов с АГ и высоким КВР. Уровни экспрессии AT1R в интактных артериях не отличаются от таковых в артериях, пораженных атеросклерозом ( $p > 0,05$ ). У ряда пациентов с выраженным атеросклерозом отсутствует экспрессия AT1R в ГМКС, что ставит под сомнение ведущую роль РАС в патогенезе ремоделирования сосудов в некоторых случаях. Необходимо проведение исследований, направленных на изучение механизмов, влияющих на уровень экспрессии тканевых компонентов РАС и выясняющих причину низкой подверженности маммарных артерий атеросклерозу в условиях высокой активности в них РАС при наличии выраженного поражения артерий других локализаций (например, выраженного коронарного атеросклероза).

# ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TNF $\alpha$ (-308A/G) И КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

*М.С. Недосейкина*

*Гомельский государственный медицинский университет, 246050, Республика Беларусь, г. Гомель, ул. Ланге, 5*

*E-mail: romaryo@tut.by*

Синтез цитокинов генетически детерминирован. Ген фактора некроза опухолей  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) расположен на 6-й хромосоме в пределах главного комплекса гистосовместимости [1]. При генотипе TNF $\alpha$ (-308GG) повышается риск преждевременных родов в 2,7 раз, а при сочетании с бактериальным вагинозом – в 6 раз [2], увеличивается риск развития хориоамнионита в 3 раза [3].

Целью работы является изучение течения беременности у пациенток в зависимости от аллельного варианта гена промоторной области TNF $\alpha$ (-308A/G) и значения концентрации TNF $\alpha$ .

Обследовано 100 женщин в третьем триместре беременности. В группах исследования оценивали течение беременности. Определение уровня TNF $\alpha$  в венозной крови рожениц проводили методом иммуноферментного анализа. Определяли полиморфные аллели -308A/G в промоторной области гена TNF $\alpha$ .

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы MedCalc 10.2.0.0 («MariaKerke», Бельгия). Для описания качественных признаков использовали долю ( $p$ ) и 95 % доверительный интервал (95 %CI), рассчитанный по методу Клоппер-Пирсона. Общее межгрупповое различие качественных признаков определяли с помощью критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность и углового преобразования Фишера  $\phi$ . Парное межгрупповое сравнение количественных признаков рассчитывали по критерию Манна-Уитни с поправкой Йейтса ( $Z$ ). Статистически значимыми были результаты с значением  $p < 0,05$ .

Наиболее частым аллельным вариантом гена среди обследованных пациенток был TNF $\alpha$ (-308GG), диагностированный у 86 (86 %; 77–92) женщин, по сравнению с TNF $\alpha$ (-308AG), выявленным у 12 (12 %; 6–20) беременных, и TNF $\alpha$ (-308AA), который наблюдали у 2 (2 %; 0,3–7) пациенток ( $\chi^2=100,8$ ;  $p < 0,0001$ ).

У беременных с генотипом TNF $\alpha$ (-308GG) уровень TNF $\alpha$  в сыворотке крови составил 0,12 (0,10; 0,28) пг/мл, что было статистически значимо меньше по сравнению с 0,63 (0,13; 1,55) пг/мл у женщин при наличии аллеля А ( $Z=2,31$ ,  $p=0,02$ ).

Настоящая беременность завершилась преждевременными родами у 45 (52,3 %; 41,3–63,2) женщин с гомозиготным носительством аллеля G и в 5 (35,7 %; 12,8–64,9) случаях при наличии аллеля А. У 32 (74,4 %;  $N=43$ ) пациенток с генотипом TNF $\alpha$ (-308GG) при преждевременных родах отмечены низкие и парамедианные значения концентрации TNF $\alpha$  в сыворотке крови ( $\chi^2=18,6$ ,  $p < 0,0001$ ).

Синдром задержки роста плода (СЗРП) выявлен в 1 (7,1 %;  $N=14$ ) случае при гетерозиготном генотипе и в 11 (12,8 %; 6,6–21,7) случаях при гомозиготном носительстве аллеля G у беременных, среди которых у 9 (81,8 %) в крови отмечены низкие и парамедианные значения TNF $\alpha$  ( $\chi^2=6,6$ ,  $p=0,01$ ). У пациентки с генотипом TNF $\alpha$ (-308AG) концентрация TNF $\alpha$  составила 1,25 пг/мл, данный уровень был сопоставим со значениями, отнесенными к 4-му квартилю концентрации у женщин при гомозиготном носительстве аллеля G и СЗРП. Преждевременное излитие околоплодных вод диагностировано у 26 (81,3 %;  $N=32$ ) пациенток с генотипом TNF $\alpha$ (-308GG) и низкими и парамедианными уровнями TNF $\alpha$  в венозной крови и у 6 (18,7 %) женщин с данным генотипом и концентрацией TNF $\alpha$ , отнесенной к 4-му квартилю ( $\chi^2=22,6$ ,  $p < 0,0001$ ).

Низкая масса тела при рождении диагностирована у 30 (34,9 %; 24,9–45,9) детей, рожденных женщинами-носительницами генотипа TNF $\alpha$ (-308GG) и у 2 (14,3 %; 1,8–42,8) новорожденных при наличии у матери аллеля А ( $\phi=1,69$ ,  $p=0,045$ ). При наличии гипотрофии новорожденных у их матерей с генотипом TNF $\alpha$ (-308GG) в сыворотке крови в 28 (82,4 %;  $N=34$ ) случаях отмечены низкие и парамедианные значения концентрации TNF $\alpha$  ( $\chi^2=25,9$ ,  $p < 0,0001$ ).



Наиболее частым генотипом, выявленным у пациенток (86 %;  $p < 0,0001$ ), является TNF $\alpha$ (-308GG), ответственный за низкую концентрацию TNF $\alpha$  в венозной крови пациенток (Me=0,12 пг/мл;  $p=0,02$ ). У носительниц генотипа TNF $\alpha$ (-308GG) со значениями TNF $\alpha$  в венозной крови, отнесенных к 1-му и парамедианным квартилям, данная беременность осложнилась СЗРП (81,3 %;  $p=0,01$ ), преждевременным излитием околоплодных вод (81,3 %;  $p < 0,0001$ ), преждевременными родами (74,4 %;  $p < 0,0001$ ), отмечена наибольшая доля детей с гипотрофией (82,4 %;  $p < 0,0001$ ).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Nedwin G.E., Naylor S.L., Sakaguchi A.Y., Smith D.H., Jarrett-Nedwin J., Pennica D., Goeddel D.V., Gray P.W. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization // *Nucleic Acids Res.* 1985. Vol. 13. P. 6361–6372.
2. Macones G.A. Parry S., Elkousy M. et al. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth // *Am. J. Obstet Gynecol.* 2004. Vol. 190 (6). P. 1504–1508.
3. Simhan H.N., Krohn M.A., Zeevi A., Daftary A., Harger G., Caritis S.N. Tumor necrosis factor-alpha promoter gene polymorphism -308 and chorioamnionitis // *Obstet Gynecol.* 2003. Vol. 102 (1). P. 162–166.

---

## ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРЕПАРАТА ПРИ НАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

*Л.И. Новикова, В.А. Алешкин, М.М. Зуева, Р.Л. Панурина, А.В. Волков,  
Н.С. Матвеевская, С.С. Бочкарева, Т.В. Синчугова*

*Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, 125212, Российская Федерация, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10  
E-mail: novikova414@bk.ru*

МНИИЭМ им.Г.Н. Габричевского с 40-х годов XX века занимается проблемой разработки, исследования механизмов действия и использования в клинике препаратов иммуноглобулинов, уделяя помимо специфической активности отдельное внимание способу их использования. Институт является пионером в области разработки иммуноглобулиновых препаратов местного применения. Для лечения кишечных инфекций различной этиологии внедрен в практику комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИП) в виде лиофилизата для приема внутрь, для лечения инфекций урогенитальной сферы – препарат «Кипферон, суппозитории». На стадии разработки находится назальная форма КИП (капли в нос), которую предполагается использовать при инфекциях респираторного тракта. КИП содержит иммуноглобулины трех основных классов – IgG, IgA и IgM – и обладает широким спектром антител против различных бактерий, вирусов и токсинов [1].

В рамках доклинического исследования была изучена фармакокинетика КИП при назальном введении здоровому взрослому. Для изучения фармакокинетики иммуноглобулиновых препаратов нами были частично разработаны, а частично адаптированы из имеющихся, методические подходы, использующие в качестве метки изучаемых белков биотин. Иммуноглобулины метили биотином, а для анализа биотинилированных молекул в биологических образцах были сконструированы иммуноферментные тест-системы, основанные на реакции иммуноглобулиновой части препарата с подложкой (антитела к тяжелым цепям IgG, IgA или IgM человека), а биотиновой части – с конъюгатом (стрептавидин-пероксидаза). Биотинилирование оказалось очень удобным способом мечения иммуноглобулинов, позволяющим достаточно легко в дальнейшем обнаружить меченый белок в исследуемом образце. Меченый биотином КИП вводили испытуемому 3 раза

в день по 1,0 мл (по 0,5 мл в каждый носовой ход) в течение 5 суток, т.е. суточная доза составила 3 мл (60–90 мг белка), а курсовая – 15 мл (300–450 мг белка). Сбор образцов слюны осуществляли в процессе приема препарата, а также еще в течение 9 дней по окончании его приема.

Выявлено, что при интраназальном введении здоровому взрослому основная часть иммуноглобулинов оказывается в слюне испытуемого. Так, биотинилированные молекулы иммуноглобулинов всех исследованных изотипов стабильно обнаруживались в слюне через 15 минут после каждого приема препарата в течение всех 5 дней курса. Кроме этого, биотинилированные молекулы IgG, IgA и особенно IgM обнаруживались в слюне и в более поздние сроки наблюдения (через 1 ч). Интересно, отметить, что следы биотинилированного IgM обнаруживались в слюне даже через несколько дней по окончании приема препарата (до 8 дня). Этот феномен можно объяснить тем обстоятельством, что при интраназальном введении препарата какая-то часть иммуноглобулиновых молекул сорбируется на эпителии носовых ходов, а в слюну попадает значительно позже. В целом же, на следующий день по окончании пятидневного курса приема препарата и в остальные дни исследования биотинилированные молекулы иммуноглобулинов в слюне уже не обнаруживались. Они попадают в пищеварительный тракт и их дальнейшая фармакокинетика напоминает фармакокинетику перорально введенных иммуноглобулинов, продемонстрированную нами ранее [2].

Показано, что на фоне ежесуточных колебаний в слюне концентрации иммуноглобулинов содержание общих IgG, IgA и IgM возрастает после интраназального введения КИП. Особенно это касается иммуноглобулинов А и М. Так, среднесуточная концентрация общего IgA и общего IgM в слюне испытуемого в течение пяти дней введения препарата была стабильной и держалась на уровне 2,0–3,1 и 2,2–2,4 мкг/мл, соответственно, в то время как в последующие дни содержание этих иммуноглобулинов в слюне, в основном, было ниже. Концентрация же иммуноглобулина G, оставаясь стабильно высокой в дни приема КИП, была подвержена более выраженным колебаниям в течение всего эксперимента. Среднесуточное содержание в слюне секреторного IgA находилось в диапазоне от 71 до 278 мкг/мл и не зависело от введения препарата, что согласуется с известными данными о механизмах его синтеза. Таким образом, при интраназальном введении КИП иммуноглобулины препарата могут находиться в слюне в течение длительного времени (до 1 ч), а IgM даже в течение нескольких дней. Показано также, что на фоне интраназального приема КИП наблюдается возрастание общей концентрации IgG, IgA и IgM в слюне.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Новикова Л.И., Алешкин В.А., Борисова И.В., Зуева М.М. Интраназальная форма иммуноглобулиновых препаратов – перспективы использования в медицинской практике // ЖМЭИ. 2008. № 5. С. 29–35.
2. Новикова Л.И., Зуева М.М., Алешкин В.А., Борисова И.В., Панурин Р.Л. Изучение фармакокинетики комплексного иммуноглобулинового препарата при пероральном введении // International Journal on Immunorehabilitation. 2010. Т. 12. № 2. С. 236–237.

---

## ЭКСПРЕССИЯ HSA-MIR-204-5P В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЯХ ПРИ ПОТЕРЕ БЕРЕМЕННОСТИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ

**Е.П. Омельчук, Е.В. Бутенко, К.А.Коваленко, Е.В. Машкина**

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 191/1  
E-mail: ekaterina.omelchuck@yandex.ru; evbutenko@sfedu.ru*

Невынашивание беременности – самопроизвольное прерывание беременности в сроки от зачатия до 37 недель, считая с первого дня последней менструации. Частота прерывания

беременности в первом триместре достигает 50 %. Потеря беременности сопровождается изменениями в профиле экспрессии микро-РНК эмбриональных и экстраэмбриональных тканей. Предшествующие биоинформационные исследования [1] показали, что микро-РНК miR-204–5p способна регулировать экспрессию большой группы генов, участвующих в процессах ангиогенеза, роста и инвазии трофобласта. Целью данной работы явилось исследование экспрессии hsa-miR-204–5p в тканях эндометрия, хориона и эмбриона при физиологическом течении беременности, а также при самопроизвольном прерывании беременности в первом триместре.

Образцы эмбриональной, хорионической и децидуальной ткани человека были получены на 5–9-й неделе беременности после хирургического прерывания (контрольные группы,  $N=13$ ) и после самопроизвольного прерывания беременности (исследуемые группы,  $N=10$ ). Экстракцию тотальной РНК проводили фенольным методом с помощью гуанидина тиоцианата. Анализ экспрессии miR-204–5p проводили при помощи метода количественной ПЦР [2]. Полиаденилирование проводили при помощи poly(A) полимеразы *E. coli* (NewEnglandBiolabs, Великобритания) при 37 °C 1 час в объеме 10 мкл. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием реагентов фирмы Синтол (Россия), при 45 °C в течение 50 мин, после чего при 92 °C в течение 8 мин, доводя общий объем смеси до 25 мкл. Реакция ПЦР-РВ была проведена на амплификаторе фирмы Bio-Rad (США) с использованием реагентов фирмы Синтол (Россия). Условия для проведения ПЦР: 95 °C 300 с, 60 °C 40 с, 95 °C 15 с, 40 циклов. Используемый краситель – SYBR-GreenI. В качестве референсного гена был использован hsa-miR-92a-1–5p [3]. Оценку изменения уровня экспрессии исследуемой микро-РНК в опытном образце по отношению к контрольному проводили с помощью  $\Delta C_T$  метода [4]. Достоверность отличий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

При физиологическом течении беременности экспрессия miR-204–5p в тканях хориона была выше, чем в тканях эндометрия и плаценты. При самопроизвольном прерывании беременности различий в концентрации miR-204–5p между тканями не выявлено. При потере беременности в первом триместре в тканях хориона наблюдалась повышенная экспрессия miR-204–5p по сравнению с контрольной группой. В тканях эмбриона и децидуальной ткани эндометрия изменений экспрессии miR-204–5p не выявлено. Результаты представлены в таблице.

Таблица

**Изменение уровня экспрессии hsa-miR-204–5p ( $\Delta C_T$ ) при самопроизвольном прерывании беременности (СПБ) в первом триместре по сравнению с физиологическим течением беременности (ФТБ)**

Ткань	СПБ	ФТБ	p
Децидуальная	3,8±0,7	4,2±0,6	0,6
Хорион	2,1±0,9*	3,8±1,3	<b>0,005</b>
Эмбриональная	4,3±0,6	4,9±1,1	0,6

\*–  $p<0,001$

MiR-204–5p оказывает влияние на экспрессию более 100 генов, которые участвуют в процессах имплантации blastocysty, ангиогенезе, росте, дифференцировке и апоптозе клеток, среди которых гены факторов роста, цитокинов и металлопротеиназ. Обнаруженные изменения экспрессии данной микро-РНК в ткани хориона указывают на ее функциональное значение в процессе формирования и нормального функционирования плаценты.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Omelchuk E.P., Butenko E.V., Romanov D.E., Pshenichnyij E.A. Bioinformatics analysis of mi-RNA motifs distribution in cytokine genes and their surroundings // European journal of human genetics. 2015. Vol. 23. S.1. P. 463.
2. Balcells I., Cirera S., Busk P.K. Specific and sensitive quantitative RT-PCR of miRNAs with DNA primers // BMC biotechnology. 2011. Vol. 11. №. 1. P. 70.
3. Torres A., Torres K., Wdowiak P., Paszkowski T. et al. Selection and validation of endogenous controls for microRNA expression studies in endometrioid endometrial cancer tissues // Gynecologic oncology. 2013. Vol. 130. №. 3. P. 588–594.
4. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method // Methods. 2001. Vol. 25. №. 4. P. 402–408.

*Исследование было выполнено при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 6.98.2014/К, на оборудовании ЦКП «Высокие технологии ЮФУ», грант № RFMEFI59414X0002.*

---

## РОЛЬ ГЕНОВ ЦИТОХРОМОВ P450 CYP1B1 И CYP2J3 В РАЗВИТИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННО СТАРЕЮЩИХ КРЫС OXYS

***М.Л. Перепечаева<sup>1</sup>, Н.Г. Колосова<sup>1,2</sup>, А.Ю. Гришанова<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, 630117, Российская Федерация, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 630090, Российская Федерация, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10

E-mail: perepech@soramn.ru; kolosova@bionet.nsc.ru; agrish@soramn.ru

Создание и характеристика биологических моделей социально значимых заболеваний человека – один из подходов к выяснению их этиологии и патогенеза, к разработке новых способов лечения и профилактики. Линия преждевременно стареющих крыс OXYS, созданная в Институте цитологии и генетики СО РАН, может быть моделью изучения патогенетических механизмов сердечно-сосудистых патологий человека [1]. Одним из проявлений синдрома преждевременного старения у крыс OXYS является гипертрофическая кардиомиопатия на фоне повышенного артериального давления.

Структурно-функциональные изменения в сердечно-сосудистой системе, развивающиеся в процессе старения, могут быть связаны с изменением экспрессии цитохромов P450 CYP1A1, CYP1B1 и CYP2J2 (CYP2J3 для крыс). Показано, что ферменты, кодируемые соответствующими AhR-зависимыми генами, участвуют в метаболизме арахидоновой кислоты. CYP1A1 способен катализировать образование 16–19- гидроксэйкозатетраеновых кислот, которые являются сосудорасширяющими соединениями и обладают противовоспалительными свойствами. CYP1B1 катализирует образование кардиотоксического соединения 12-гидроксэйкозатетраеновой кислоты [2]. CYP2J2 человека и его гомолог, который встречается у крыс, CYP2J3, отвечает за окисление арахидоновой кислоты, в результате чего происходит образование 8,9-; 11–12; 14,15-эпоксиэйкозатриеновых и 19-гидроксэйкозатетраеновой кислот [2], имеющих отношение к функционированию сердечно-сосудистой системы. Была показана и вероятная связь между уровнем экспрессии CYP1 и CYP2J и развитием гипертрофии сердца [3].

Мы сравнили уровень мРНК *CYP1B1*, *CYP2J3* и *CYP1A1* в отделах сердца (правом и левом желудочках, правом и левом предсердиях и аорте) крыс OXYS (модель сердечно-сосудистой патологии), крыс OXYSb (сублиния с нормальным артериальным давлением) и крыс Вистар без признаков заболевания. Для этого была проведена ПЦР в реальном времени по принципу TaqMan на оборудовании CFX96 (Bio-Rad Laboratories). Статистический анализ был выполнен с помощью программы *STATISTICA* с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и апостериорного теста Ньюмена-Кейсла.

Было выявлено, что в возрасте 1 месяца различия в уровне мРНК наблюдались только в левом предсердии: уровень мРНК *CYP1B1* был ниже у крыс OXYS, чем у крыс Вистар, а уровень мРНК *CYP2J3* был ниже у крыс OXYS, чем у крыс OXYSb ( $p < 0,05$ ).

У 3-месячных крыс наблюдались более значительные различия, общая тенденция которых состояла в том, что у крыс OXYS уровень мРНК *CYP1B1* и *CYP2J3* был ниже, чем у крыс OXYSb и Вистар. Так, в правом предсердии уровень мРНК *CYP1B1* и *CYP2J3* был ниже у крыс OXYS, чем у крыс Вистар, и уровень мРНК *CYP1B1* был ниже у крыс OXYS, чем у крыс OXYSb ( $p < 0,05$ ). В правом желудочке уровень мРНК *CYP2J3* был ниже у крыс OXYS, чем у крыс Вистар ( $p < 0,05$ ). В левом желудочке уровень мРНК *CYP1B1* и *CYP2J3* был ниже у крыс OXYS по сравнению с крысами Вистар и крысами OXYSb ( $p < 0,05$ ). В аорте уровень мРНК *CYP1B1* и *CYP2J3* был ниже у крыс OXYS и OXYSb по сравнению с крысами Вистар ( $p < 0,05$ ). Не наблюдалось никаких различий в экспрессии исследуемых генов в левом предсердии крыс. Уровень мРНК *CYP1A1* был выше у крыс OXYSb по сравнению с крысами Вистар в правом желудочке, других различий относительно уровня мРНК *CYP1A1* обнаружено не было.

Таким образом, транскрипционная активность *CYP1B1* и *CYP2J3* отличается у «здоровых» крыс и крыс с сердечно-сосудистой патологией. Исследование позволяет продвинуться по пути понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе развития возраст-зависимых сердечно-сосудистых заболеваний, и по пути поиска молекулярных мишеней для разработки диагностических систем и терапевтических препаратов. В качестве таких потенциальных мишеней можно рассматривать *CYP1B1* и *CYP2J3*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bobko A.A., Sergeeva S.V., Bagryanskaya E.G., Mlarkel A.L., Khramtsov V.V., Reznikov V.A., Kolosova N.G. 19F NMR measurements of NO production in hypertensive ISIAH and OXYS rats // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2005. Vol. 330(2). P. 367–370.
2. El-Sherbeni, A.A. and A.O. El-Kadi. Alterations in cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolism during pressure overload-induced cardiac hypertrophy // Biochem. Pharmacol. 2014. Vol. 87(3). P. 456–466.
3. Alsaad Abdulaziz M.S., Zordoky Beshay N.M., Tse Mandy M.Y., El-Kadi Ayman O.S. Role of cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolites in the pathogenesis of cardiac hypertrophy // Drug. Metab. Rev. 2013. Vol. 45(2). P. 173–195.

---

## ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СЫВОРОТОЧНЫЕ АЛЬБУМИНЫ

**О. А. Плотникова, А.Г. Мельников, Г.В. Мельников**

Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина, 410054, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Политехническая, 77  
E-mail: djachuko@mail.ru

Современный уровень антропогенного загрязнения вызывает необратимые изменения природных систем и ведет к ухудшению здоровья населения. Необходимость контроля данных

процессов стимулируют развитие методов исследования воздействия на биологические системы различных токсичных веществ. В основе важнейших процессов жизнедеятельности организма лежит правильное функционирование белков. Важную роль играют транспортные белки, в частности сывороточные альбумины, способные связывать не только нужные для организма вещества, но и токсичные при определенных концентрациях вещества, например, тяжелые металлы (ТМ). Исследование способности белков связывать различные вещества, переносить их к различным органам и тканям, денатурировать и изменять свои свойства под влиянием различных веществ и воздействий чрезвычайно важны, поскольку изменение конформационных свойств и денатурация белков может приводить к развитию широкого круга заболеваний. Среди различных физических и химических методов исследования заметную роль играют методы, основанные на регистрации и интерпретации измененной флуоресценции белков и люминесцентных зондов.

Целью настоящей работы является исследование процессов взаимодействия сывороточных альбуминов с ионами тяжелых металлов и разработка на этой основе флуоресцентного метода и приборного обеспечения для определения тяжелых металлов в белковых системах.

Экспериментально исследовано тушение ионами ТМ (свинец, кадмий, медь) флуоресценции триптофанила сывороточного альбумина человека (САЧ) и бычьего сывороточного альбумина (БСА). Известно, что для тушения флуоресценции требуется контакт между молекулами флуорофора и тушителя. Таким образом, тушение можно использовать для выяснения степени проницаемости для тушителей структурно подвижной глобулярной макромолекулы белков. При введении в белковые растворы ТМ наблюдается общее снижение интенсивности флуоресценции альбуминов. Однако значительного изменения положения максимумов флуоресценции белков при введении в белковый раствор ТМ в диапазоне концентраций от 0 до  $10^{-4}$  М не наблюдалось. Данный факт свидетельствует о стабильности глобулярной структуры белка при воздействии изученных концентраций ТМ.

Тщательный анализ спектров поглощения белков выявил изменения в спектрах при добавлении в раствор ТМ. В связи с этим было сделано предположение об образовании нефлуоресцирующих комплексов в основном состоянии ионов ТМ с молекулой белка и, следовательно, о возможном статическом тушении возбужденных состояний флуорофоров белка. Построенные зависимости Штерна-Фольмера тушения флуоресценции белков имеют прямолинейный характер, что указывает на одинаковую доступность триптофанилов белков для образования нефлуоресцирующих комплексов с ионами ТМ. Для количественной оценки взаимодействий были определены значения констант ассоциации Штерна-Фольмера, констант связывания и количество центров связывания белков с различными ТМ. Значения указанных характеристик связывания ионов ТМ с белками уменьшается в ряду:  $\text{Cu (II)} > \text{Pb (II)} > \text{Cd (II)}$ .

Полученные результаты могут найти применение при создании люминесцентных биосенсоров для определения солей ТМ в биосистемах, а также при разработке способов ранней диагностики ряда заболеваний, связанных со структурными изменениями белков.

*Результаты работы получены в рамках выполнения государственного задания № 4.1299.2014/К.*

# ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ микроРНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

*А.А. Пономарева<sup>1,2</sup>, Е.С. Морозкин<sup>3,4</sup>, Е.Ю. Рыкова<sup>3</sup>, И.А. Запорожченко<sup>3,4</sup>,  
Т.Э. Скворцова<sup>3</sup>, А.Ю. Добродеев<sup>1</sup>, А.А. Завьялов<sup>1</sup>, С.А. Тузиков<sup>1</sup>, В.В. Власов<sup>3</sup>,  
Н.В. Чердынцева<sup>1,5</sup>, П.П. Лактионов<sup>3,4</sup>*

<sup>1</sup>Томский научно-исследовательский институт онкологии, 634009, Российская Федерация, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Российская Федерация, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8

<sup>3</sup>Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 30

<sup>4</sup>Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина, 630055, Российская Федерация, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

<sup>5</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36

*E-mail: anastasia-ponomaryova@rambler.ru; morozkin@niboch.nsc.ru; rykova@niboch.nsc.ru; poonehome@mail.ru; skvorts@niboch.nsc.ru; dobrodeev@sibmail.com; ZavyalovAA@oncology.tomsk.ru; TuzikovSA@oncology.tomsk.ru; valentin.vlassov@niboch.nsc.ru; nvch@oncology.tomsk.ru; lakt@niboch.nsc.ru*

Показано, что уровень экспрессии опухоль-ассоциированных микроРНК существенно изменяется в плазме/сыворотке крови больных раком легкого по сравнению со здоровыми донорами. Целью настоящего исследования явилась оценка значимости изменений уровня пяти выбранных микроРНК плазмы крови как маркеров ответа на противоопухолевую терапию и маркеров прогноза выживаемости у больных раком легкого (РЛ).

Анализ экспрессии микроРНК-196, микроРНК-126, микроРНК-25, микроРНК-205, микроРНК-125b проводился с помощью количественной ОТ-ПЦР, при использовании контрольной микроРНК-16, на 23 образцах плазмы крови от больных РЛ. Образцы плазмы крови получены от пациентов до лечения, на 30-е сутки после проведения двух курсов химиотерапии и на 15-е сутки после резекции опухоли.

В результате анализа методом ANOVA показано, что изменения уровня экспрессии микроРНК-196 в плазме крови пациентов на этапах динамического наблюдения при проведении противоопухолевой терапии характеризуются значимым квадратичным трендом ( $p=0,03$ ). Уровень экспрессии микроРНК-125b значимо повышается и характеризуется линейным трендом ( $p=0,03$ ). Отношение микроРНК-125b/196 значимо изменяется в образцах плазмы крови, собранных после химиотерапии и после операции, и при этом характеризуется линейным трендом ( $p=0,04$ ).

В ходе анализа отдельных групп пациентов в зависимости от ответа на химиотерапию (с частичной регрессией – группа 1 и со стабилизацией или прогрессией – группа 2) выявлены также разные тренды экспрессии микроРНК-196, микроРНК-125b и микроРНК-125b/микро-196 между этими группами. Показана ассоциация изменений отношения микроРНК-125b/микро-196 с безрецидивной выживаемостью у больных РЛ ( $p<0,1$ ). Таким образом, динамические изменения трендов уровня экспрессии микроРНК-196, микроРНК-125b и микроРНК-125b/микро-196 свидетельствуют о потенциальной возможности использования данных показателей как маркеров предсказания ответа на противоопухолевое лечение. Представляются перспективными дальней-

шие исследования с целью оценки прямой связи между уровнем экспрессии микроРНК в плазме крови с ответом на терапию и выживаемостью у больных РЛ.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 14–04–01881, в рамках программы «Постдок в ТПУ».*

---

## **РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ АТРОФИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЖЕЛУДКА У ЛИЦ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ЯДЕРНО-ОПАСНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ НА ЮЖНОМ УРАЛЕ**

***Е.И. Рабинович<sup>1</sup>, С.В. Поволоцкая<sup>1</sup>, О.В. Зубкова<sup>2</sup>, А.П. Капов<sup>2</sup>***

<sup>1</sup>Южно-Уральский институт биофизики ФМБА РФ, 456780, Российская Федерация, Челябинская область, г. Озерск, Озерское ш., 19

<sup>2</sup>Центральная Медико-санитарная часть № 71 ФМБА РФ, 456780, Российская Федерация, Челябинская область, г. Озерск, ул. Строительная, 1  
E-mail: lab8@subi.su

Среди предраковых заболеваний желудка наибольшее значение имеет длительно существующий атрофический гастрит (АГ). В настоящее время для скрининга состояния СОЖ наиболее современным является неинвазивный серологический способ оценки морфо-функционального состояния желудка при помощи технологии «Гастропанель», точность этого способа в диагностике АГ, по сведениям авторов, составляет 80 % [1]. Для подтверждения этих данных нами было проведено гистологическое исследование гастробиоптатов у лиц с АГ, установленным с помощью тестовой панели «Гастропанель» на основании определения в сыворотке крови содержания биомаркеров состояния слизистой оболочки желудка (СОЖ): пепсиногена 1, гастрин-17 и антител к *Helicobacter pylori* (*Hp*). Сравнение результатов двух методов исследования у 33 человек показало совпадение серологических и гистологических заключений об атрофическом состоянии СОЖ в 100 % случаев. Некоторые различия наблюдались при оценке локализации АГ: подавляющее большинство атрофий в случае использования «Гастропанели» приходилось на тело желудка (64 %), тогда как при гистологическом исследовании в 88 % случаев выявлялась сочетанная атрофия СОЖ в теле и в антральном отделе желудка.

При исследованиях особенностей желудочной патологии у персонала ядерно-опасного предприятия на Южном Урале (Производственное объединение (ПО) «Маяк») выявлено, что рак желудка занимает 3-е ранговое место в структуре злокачественных новообразований (ЗНО) среди мужчин и 4-е – среди женщин [2]. В то же время сведения о частоте хронических неканцерогенных заболеваний желудка под влиянием радиации немногочисленны. Известно, что у лиц с атрофическим гастритом многократно возрастает риск неопластической трансформации по сравнению с риском у индивидуумов со здоровой СОЖ [3]. Таким образом, ранняя доклиническая диагностика АГ является актуальной задачей профилактики ЗНО желудка в этой группе работников.

Для изучения влияния производственных факторов на распространенность АГ у работников ПО «Маяк» была сформирована контрольная группа из лиц, проживающих вблизи данного предприятия, но не контактировавших в своей профессиональной деятельности с источниками ионизирующих излучений и вредными химическими веществами. Привлечение участников проводилось в период медосмотра, без ознакомления с персональными медицинскими сведениями, что исключило неслучайную выборку. После подписания «Информированного согласия» в группу были включены 104 человека в возрасте от 40 до 80 лет, доля мужчин составила 62,5 %.



Согласно опросу, семейный анамнез рака желудка отмечался у 2 % лиц, хронические гастриты (не язвенно-подобные) – у 27 % лиц. Среди лиц контрольной группы 34 % курят в настоящее время или длительно курили в прошлом, об умеренном употреблении алкоголя сообщили 83 % участников обследования. Состояние СОЖ, квалифицированное в соответствии с диагностическим алгоритмом «Гастрософт» [1], было представлено в 12,5 % случаев нормальной функцией, в 82,7 % случаев – неатрофическим гастритом, ассоциированным с *Нр*, и в 4,8 % случаев – атрофическим гастритом. Полученные данные совпадают с имеющимися в литературе. Так, в работе [4] показано, что распространенность атрофического гастрита, выявленного с помощью технологии «Гастропанель» у лиц, не подвергавшихся воздействию неблагоприятных внешне-средовых факторов, составила 4,1 %.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ваананен Х., Ваухконен М., Хэлске Т. и др. Неэндоскопическая диагностика атрофического гастрита на основании анализа крови: корреляция между результатами гистологического исследования желудка и уровнями гастрин-17 и пепсиногена 1 в сыворотке // Клини. персп. гастроэнтер. гепатол. 2003. № 4. С. 26–32
2. Кошурникова Н.А., Окатенко П.В., Фомин Е.П. и др. Некоторые показатели заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований среди населения г. Озерска за период с 1994 по 2004 годы // Медицина экстремальных ситуаций. 2006. № 4. С. 30–40.
3. Wong B.C., Lam S.K., Wong W.M. et al. Helicobacter pylori eradication to prevent gastric cancer in high-risk region of China: a randomized controlled trial // JAMA. 2004. Vol. 291. № 2. P.187–194.
4. Дорн О.Ю., Песков С.А., Потеряева Е.Л. и др. Факторы риска в развитии гастропатий у рабочих пылеопасных профессий // Медицина труда и промышленная экология. 2011. № 2. С. 23–27.

---

## ВЛИЯНИЕ G197/197A SNP ГЕНА IL-17A НА ПРОДУКЦИЮ МЕДИАТОРА МНК В НОРМЕ И ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

К.А. Руденко<sup>1</sup>, А.Р. Тугуз<sup>1</sup>, М.М. Нихай<sup>2</sup>, Е.А. Татаркова<sup>1</sup>, Д.В. Муженя<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Адыгейский государственный университет, НИИ комплексных проблем, 385000, Российская Федерация, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208

<sup>2</sup>Адыгейская республиканская клиническая больница, 385000, Российская Федерация, г. Майкоп, ул. Жуковского, 4

E-mail: Lab\_genetic@mail.ru

Исследование роли основного провоспалительного цитокина IL-17A в патогенезе бронхиальной астмы (БА) обусловлено широким спектром его биологических эффектов: запуском базовой воспалительной реакции, активацией продукции других медиаторов иммунной системы IL-6, G-CSF, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , простагландинов, хемокинов, привлечением в очаг воспаления моноцитов, нейтрофилов и т.д. Патофизиологические механизмы хронической воспалительной реакции, обусловленные SNP IL-17A, приводят к повреждению тканей, перестройке дыхательных путей, провоцирующих развитие БА. Влияние полиморфизмов, генотипов генов основных цитокинов на уровни медиаторов в биологических средах наиболее исследовано в отношении сывороточных концентраций. Данные по спонтанной и стимулированной *in vitro* продукции многих цитокинов единичны, в основном представлены для здорового контингента населения и практически не исследованы при разных формах БА (HuGen, Pubmed, Ensembl).

Для идентификации протективных и ассоциированных с БА полиморфизмов гена IL-17A, у больных с тяжелой формой БА ( $n=47$ ) и здоровых жителей РА ( $n=34$ ) исследованы частоты

наиболее распространенные в мире G197/197A аллельных вариантов промоторного региона гена *IL-17A*. Полиморфизм гена *IL-17A* (G197A, rs2275913) исследован SNP-методом (single nucleotide polymorphism) на тест-системах НПФ «Литех» (Москва) с электрофоретической детекцией результатов. Геномная ДНК выделена из периферической крови доноров и больных БА «ДНК-экспресс кровь» НПФ «Литех» (Москва). Концентрации и качество образцов ДНК тестированы на спектрофотометре NanoDrop 2000c «Thermo Scientific» (USA). МНК (моноклеарные клетки) выделены из стабилизированной гепарином (25 ед/мл) периферической крови на одноступенчатом градиенте фиколла («Histopaque», плотность 1,077, «Sigma», USA). Уровни *IL-17A* в сыворотках, супернатантах МНК доноров и больных определены иммуноферментным анализом (ELISA) на 96-луночном планшетном спектрофотометре (BIO-RAD, USA) при длине волны 450 нм с использованием коммерческих тест-систем «Вектор-БЕСТ» (Новосибирск), «Цитокин» (Санкт-Петербург). Обработку данных проводили с помощью статистических пакетов MS Office Excel 2003 (Microsoft), SPSS Statistics версии 17.0 (Inc., Chicago, USA). Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) частот аллелей гена *IL-17A* (G197/197A, rs2275913) рассчитаны с использованием непараметрического метода Фишера,  $\chi^2$  (хи-квадрата), OR (odds-ratio – отношения шансов), 95 % доверительного интервала (95 % CI). Достоверность различий концентрации цитокинов *IL-17A*, в образцах сывороток, супернатантах МНК доноров и больных при нормальном распределении значений определяли с использованием параметрического коэффициента Стьюдента ( $t$ ).

Влияние G197/197A полиморфизмов промоторного региона гена *IL-17A* на уровни спонтанной и стимулированной продукции данного медиатора у доноров и больных БА оценивали *in vitro* в культуре клеток МНК (табл.).

Таблица

**Влияние SNP гена *IL-17A* на продукцию медиатора МНК доноров и больных БА**

IL-17A G197A	M±m, пг/мл						t, p
	больные БА			доноры			
	сыворотка (n=3/7/6)	МНК (n=3/6/6)	МНК + ФГА (n=4/7/6)	сыворотка (n=10/9)	МНК (n=9/9)	МНК + ФГА (n=10/9)	
GG	2516,11±33,29	1698,28±822,35	177,64±103,56	2533,62 ±87,96	226,67 ±170,31	425,93±242,83	0,10 <sup>1</sup> ; ≥0,05 2,82 <sup>2*</sup> ; ≤0,02 0,62 <sup>3</sup> ; ≥0,05
GA	2572,23±13,12	39,03±9,85	462,32±352,91	2542,72 ±36,72	99,81 ±85,85	128,57±58,00	0,68 <sup>4</sup> ; ≥0,05 0,57 <sup>5</sup> ; ≥0,05 1,06 <sup>6</sup> ; ≥0,05
AA	2416,67±121,44	604,43±407,32	455,58±408,34	–	–	–	–
t, p	1,95 <sup>7</sup> ; ≥0,05 0,55 <sup>8</sup> ; ≥0,05 1,38 <sup>9</sup> ; ≥0,05	3,08 <sup>10*</sup> ; ≤0,02 1,36 <sup>11</sup> ; ≥0,05 1,39 <sup>12</sup> ; ≥0,05	0,59 <sup>13</sup> ; ≥0,05 0,54 <sup>14</sup> ; ≥0,05 0,01 <sup>15</sup> ; ≥0,05	0,09 <sup>16</sup> ; ≥0,05	0,66 <sup>17</sup> ; ≥0,05	1,13 <sup>18</sup> ; ≥0,05	

**Примечания:** \* – статистически значимые различия ( $p \leq 0,05$ ); M – среднее значение; m – стандартная ошибка среднего; s – стандартное отклонение; p- вероятность ошибки; t – критерий Стьюдента.

Интактные МНК больных с нормальным гомозиготным G197G генотипом продуцируют достоверно более высокие уровни *IL-17A* по сравнению с гетерозиготным G197A вариантом ( $t = 3,081$  при  $p < 0,05$ ). Отмечено повышение спонтанной продукции *IL-17A* МНК доноров – носителей G197G гомозиготного генотипа ( $p > 0,05$ ). Различия в уровнях стимулированной *in vitro* ФГА продукции *IL-17A* МНК в зависимости от генотипа статистически не значимы (табл.). У больных и доноров G197/197G генотип и 197G аллель ассоциированы с повышенной, а 197A аллель *IL-17A*

в гетерозиготном (A197/197G) и гомозиготном состоянии (A197/197A) – со сниженной спонтанной продукцией *IL-17A* МНК. 197A аллель *IL-17A* в гетерозиготном и гомозиготном состоянии подавляет спонтанную продукцию цитокина. Полученные экспериментальные данные не имеют отечественных и зарубежных аналогов.

Таким образом, полиморфизм промоторных регионов генов *IL-17A* влияют на продукцию МНК соответствующего медиаторов: 197A аллель *IL-17A* в гетерозиготном и гомозиготном состоянии ассоциирован со сниженной спонтанной продукцией цитокина.

---

## ХАРАКТЕРИСТИКИ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИФН-А В РАЗЛИЧНЫХ МОДУЛИРУЮЩИХ УСЛОВИЯХ ИНКУБАЦИИ

*А.Б. Сагакянц*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: asagak@rambler.ru*

Сывороточный альбумин (СА) является уникальной буферной системой, осуществляющей коммуникативные функции в многоклеточном организме и обладающей про- и анитоксидантными свойствами, реализация которых определяется структурно-функциональной целостностью белка. Уникальная конформационная подвижность СА обуславливает возможность взаимодействия с широким спектром веществ экзо- и эндогенной природы. Это взаимодействие может носить специфический (наличие соответствующих рецепторов) и неспецифический характер и может быть вызвано образованием как слабых, нековалентных, так и ковалентных связей между веществом и СА. При этом взаимодействие с СА определяет характер распределения вещества, его метаболизм и потенцирует реализацию биологического эффекта соединения.

В последнее время особое внимание исследователей привлекают представители новой функциональной группы эндогенных веществ – аларминов, или ДАМП, появляющихся при повреждении различного характера и определяющих запуск сложных процессов, направленных на восстановление гомеостаза. К числу данных молекул относят и интерферон-альфа (ИФН- $\alpha$ ), обладающий выраженной противовирусной, антипролиферативной и регуляторной активностями. Функциональная активность данных сигналов зависит от разных факторов: как от типа деструктивного процесса, силы и выраженности патогенетического фактора, характера их химической модификации (окислительные модификации, протеолиз и др.), так и от скорости высвобождения и распределения этих соединений во внутренней среде организма. Определенную роль может иметь неспецифическое взаимодействие с другими белками, в частности с молекулами СА. Ранее нами отмечен факт взаимодействия ИФН- $\alpha$  и сывороточного альбумина.

В связи с этим целью данной работы явилось исследование влияния ИФН- $\alpha$  на некоторые биохимические характеристики сывороточного альбумина при различных модулирующих условиях взаимодействия в опытах *in vitro*.

*Постановка эксперимента. Подготовительный этап.* 1) Приготовление рабочего раствора сывороточного альбумина (50 г/л) на соответствующем буфере – ацетатном, рН 3,4; фосфатном, рН 7,4 и ТРИС-НСl, рН 8,4 с использованием 10 %-ного раствора САЧ (производства ФГУП «НПО Микроген», Россия); 2) приготовление рабочего раствора ИФН- $\alpha$ : содержимое ампул с леофилизированным лейкоцитарным препаратом ИФН- $\alpha$  (производства ФГУП «НПО Микроген», Россия) разводили в 2 мл соответствующего буфера. Рабочие растворы САЧ и ИФН- $\alpha$  предынкубировали при температуре  $18\pm 20$  °С в течение 30 мин. По истечении времени предынкубации

готовили основную инкубационную смесь, включающую 1 мл рабочего раствора САЧ (50 г/л) и 50 мкл ИФН- $\alpha$ . По завершению сроков инкубации проводили определение концентрации SH-групп, определение общей концентрации альбумина – ОКА (унифицированный метод по реакции с бромкрезоловым зеленым), определение эффективной (транспортной) концентрации альбумина- ЭКА (по Чпгеру). С использованием ОКА и ЭКА проводили расчет «альбуминовых» показателей – резерва связывания альбумина (РСА) и индекса токсичности (ИТ). Оценку результатов определения биохимических показателей проводили на спектрофотометре DU800 (Beckman Coulter, USA). Результаты исследования статистически обрабатывались с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. Различия между контрольными и опытными группами считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

Определение концентрации SH-групп в инкубационной среде, содержащей только СА при различных условиях инкубации выявило ожидаемые изменения данного показателя, согласующиеся с данными литературы и указывающие на определенные конформационные изменения СА при данных условиях. Внесение в инкубационную среду ИФН- $\alpha$  сопровождается изменением данного показателя, зависящим от условий инкубации: при рН 3,4 наблюдается снижение концентрации SH-групп на 8 % и 33 % через 15 и 30 мин инкубации, соответственно, по сравнению со значениями данного показателя без ИФН- $\alpha$ , что может указывать компактизацию СА, вызванную, вероятно, присоединением ИФН- $\alpha$ . При рН 7,4 отмечено увеличение данного показателя на 7 % через 15 мин экспозиции, и отсутствие статистически достоверных изменений через 30 мин инкубации. При рН 8,4 через 15 мин экспозиции изменений в концентрации SH-групп не выявлено, а вот через 30 мин наблюдается снижение данного показателя на 10 % по сравнению с контролем. Выявленные закономерные изменения концентрации определяемых свободных SH-групп при изменении рН раствора и температуры инкубации, в различных условиях экспозиции, позволяют говорить, с определенной вероятностью, об изменении конформации альбумина. Совместная инкубация СА и ИФН- $\alpha$  сопровождалась не только закономерными изменениями концентрации цитокина, но и столь же закономерными изменениями концентрации выявляемых SH-групп, что указывает, вероятно, на взаимодействие альбумина и ИФН- $\alpha$ .

Изменение условий инкубации сопровождается закономерными изменениями конформации СА, что отражается на его функциональной активности, выражающимися в изменении «альбуминовых» показателей – РСА и ИТ. Внесение в инкубационную среду ИФН- $\alpha$  оказывает выраженное влияние на значение данных показателей. Так, при 37 °С и рН 3,4 выявлено снижение ОКА, ЭКА и РСА на 12, 27 и 17 %, соответственно, по сравнению с контролем. Выявленные изменения сопровождаются закономерным увеличением ИТ на 25 %, что указывает на снижение способности СА присоединять различные другие лиганды в результате взаимодействия с молекулами ИФН- $\alpha$ . Увеличение рН до 8,4 при данной температуре на фоне внесения ИФН- $\alpha$  приводит к несколько иной динамике выбранных показателей – отмечается увеличение ОКА на 16 % при снижении ЭКА и РСА на 22 и 26 % по сравнению с контролем. При этом индекс токсичности увеличивается на 167 %. Вероятно, при увеличении рН среды наблюдается расширение молекулы СА, способствующее увеличению присоединения молекул ИФН- $\alpha$  и дальнейшему снижению транспортной функции белка.

Повышение температуры инкубации до 50 °С сопровождается определенной динамикой выбранных показателей. При рН 3,4 выявлено снижение ЭКА и РСА на 20 и 17 %, соответственно, на фоне увеличения ИТ на 23 % по сравнению со значениями без ИФН- $\alpha$ . При рН 7,4 отмечается резкое увеличение ЭКА и РСА на 424 и 455 %, соответственно, на фоне снижения ИТ на 99 % по сравнению со значениями без ИФН- $\alpha$ . Выявленный характер изменения «альбуминовых» показателей при физиологических условиях рН и температуре 50 °С указывает на резкое увеличение функциональной активности альбумина, вызванной присоединением молекул интерферона. В условиях данного температурного режима и рН 8,4 не отмечено статистически достоверных изменений ОКА, ЭКА, РСА и ИТ.

Таким образом, проведенные исследования позволяют с определенной степенью вероятности говорить о возможном взаимодействии сывороточного альбумина и ИФН- $\alpha$ , результатом чего

является взаимовлияние молекул на их структурную и функциональную целостность, которую необходимо учитывать при рассмотрении биологических эффектов данных веществ. Полученные результаты указывают на перспективность проведения дальнейших исследований для изучения биологической роли взаимодействия альбумина и ИФН- $\alpha$ .

---

## **АНАЛИЗ НОВЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ХРОНИЗАЦИИ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ**

***Е.А. Суярова, Г.Н. Тарасова***

*Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29  
E-mail: lnt-s@yandex.ru*

В последние десятилетия гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) стала одним из самых распространенных гастроэнтерологических заболеваний с широким спектром осложнений, а также высокой частотой неудовлетворительных ответов на терапию, что объясняет постоянный интерес исследователей к этой проблеме. Патогенетические механизмы трансформации клинического благополучия в рецидив заболевания, вопросы регуляции моторики пищевода, влияние характера рефлюктата на особенности клинического течения ГЭРБ и эффективность лекарственной терапии, а также молекулярные основы прогрессирования заболевания изучены недостаточно. В единичных исследованиях показано, что между формами ГЭРБ, а также ее осложнениями и изменениями белковой экспрессии слизистой оболочки (СО) пищевода существует причинно-следственная взаимосвязь. В этой связи высок научный и прикладной потенциал изучения протеомного профиля СО пищевода при различных градациях рефлюкс-эзофагита. Так, в исследованиях 2013–2014 гг. с использованием протеомного анализа в гастроэнтерологии представлены дополнительные маркеры аутоиммунного гепатита, острого панкреатита, воспалительных заболеваний кишечника, гепатоцеллюлярной карциномы. У больных ГЭРБ были выделены 33 дифференциально экспрессируемых белка слизистой оболочки пищевода при эрозивных и неэрозивных формах, изучался протеомный скрининг клеток линейной модели канцерогенеза пищевода.

Целью работы явилось изучить информативность и прогностическое значение протеомного профилирования в отношении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

В клиническую часть исследования были включены 40 пациентов с ГЭРБ и 20 практически здоровых людей контрольной группы. У 26 пациентов (65 %) клинико-эндоскопически верифицирована неэрозивная форма ГЭРБ и у 14 пациентов (35 %) – эрозивный вариант заболевания.

Разделение пептидов и белков СО пищевода, их идентификация выполнены на основе электрофореза белков в полиакриламидном геле (SDS-PAGE), 1DE, наборов для клинической протеомики, MALDI-TOF-TOF-масс-спектрометрии. Биоинформационный анализ межмолекулярных взаимодействий выполнен в международных базах данных NCBI, SwissProt, MSDB, NCBI.

Зарегистрировано увеличение абсолютного количества пациентов с ГЭРБ (преимущественно в группе с эрозивным течением заболевания), с повышенной экспрессией белков, которые не регистрировались у здоровых: периплакина, ламинина, ингибитора протеиназы В, альфа-В-кристаллина, аннексина А1, белка теплового шока 90-бета. Известно, что периплакин является компонентом клеточных десмосом и сигнальной молекулой АКТ1 (альфа-серин-треонин-протеинкиназа) – опосредованного сигнального пути, участвующим в процессах клеточного роста и выживания клеток слизистой пищевода в условиях воспаления и онкогенеза. Сравнительный анализ молекулярного профиля при ГЭРБ и у здоровых показал наличие ряда белков отличия

в контрольной группе: кератин 8, белок тонкой кишки, связывающий жирные кислоты, главный транскрипционный фактор ПН. Отмечается уменьшение абсолютного количества пациентов с НЭРБ с экспрессией белков слизистой оболочки пищевода, зарегистрированных у здоровых.

Результаты свидетельствуют о наличии различий в обмене низкомолекулярных белков и пептидов при различных вариантах течения ГЭРБ, что может служить основанием для уточнения возможных механизмов формирования осложненных форм, разработки малоинвазивных методов диагностики и мониторинга заболевания.

---

## **ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ITG И SEL, АССОЦИИРОВАННЫЕ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ, ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ У ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ**

*Е.А. Татаркова, И.В. Смольков, Д.С.Шумилов, К.А.Руденко,  
А.Р. Тугуз, Д.В. Муженя, Е.Н. Анохина*

*Адыгейский государственный университет, НИИ комплексных проблем, 385000, Российская Федерация, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208*

*E-mail: Lab\_genetic@mail.ru*

По данным Медицинского информационно-аналитического центра Республики Адыгея (РА) среди причин смертности населения преобладают мультифакторные сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), злокачественные новообразования (ЗНО), хронические воспалительные заболевания легких – бронхиальная астма (БА) и др. Повышенный риск развития социально-значимых заболеваний, зачастую, связывают с SNP в генах интегринов (ITG) и селектинов (SEL), регулирующих уровень экспрессии или структурные изменения молекул адгезии. В международных базах данных и в немногочисленных отечественных исследованиях (2010–2015 гг.) приводятся весьма противоречивые сведения об ассоциации единичных нуклеотидных замен (single nucleotide polymorphisms – SNP) или полиморфизмов генов ITG и SEL с системными патологическими процессами. Высокая смертность и социально-экономический ущерб от ССЗ, ЗНО, БА обуславливает необходимость проведения поиска ранних молекулярно-генетических маркеров мультифакторных заболеваний, распространенных среди жителей РА.

Цель работы: SNP-типирование полиморфизмов генов *ITG* (*ITGA2 C807T, rs1126643; ITGB3 Leu33Pro, rs5918*) и *SEL* (*SELE Leu554Phe, rs5355; SELE Ser128Arg, rs5361; SELP Thr715Pro, rs6136*), ассоциированных у жителей РА с риском развития ССЗ, ЗНО и хронических воспалительных заболеваний легких (БА).

Распределение единичных нуклеотидных замен генов молекул адгезии у жителей РА исследована SNP-методом с аллель-специфичными праймерами (НПФ «Литех», Москва) в 268 образцах ДНК жителей РА. В группу больных ( $n=204$ ) включены пациенты с верифицированными диагнозами ССЗ ( $n=187$ ; инфаркт миокарда – ИИ, ишемическая болезнь сердца – ИБС, гипертоническая болезнь – ГБ, инсульт и тромбоз/флеботом); БА ( $n=9$ ), ЗНО молочной железы ( $n=8$ ). Контрольная группа ( $n=64$ ) представлена неродственными здоровыми жителями без клинических проявлений и наследственной отягощенности по исследуемым нозологиям. Соответствие распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и сравнении частот аллельных вариантов/генотипов проводили с использованием критерия  $\chi^2$  (хи – квадрата), OR (odds-ratio – отношения шансов), 95 % доверительного интервала (95 % CI) при уровне значимости  $p<0,05$ .

При анализе частотного распределения типированных SNP генов адгезивных молекул ITG и SEL в общей группе больных и группе доноров были выявлены достоверные отличия ( $p<0,05$ )

только для *ITGA2* C807T ( $\chi^2=6,78$ ;  $p=0,03$ ; OR=2,44) и тромбоцитарного *SELP* Thr715Pro ( $\chi^2=7,92$ ;  $p=0,02$ ; OR=2,69). Для *Ser128Arg* аллельных вариантов эндотелиального E-селектина *SELE* были найдены статистически значимые различия только у больных ССЗ. Частоты генотипов и аллелей SNP генов *ITGB3* Leu33Pro и *SELE* Leu554Phe в обследованных группах больных и доноров достоверно не отличаются.

Различия по частотам полиморфизмов генов *ITGA2* (C807T) и *SELP* (Thr715Pro), отмеченные в общих группах больных, значимы прежде всего у больных с тромбозами глубоких вен, ИМ, ИБС, ГБ и другими ССЗ. Гомозиготный генотип T807T ( $\chi^2=7,54$ ;  $p=0,02$ ; OR=2,63) и аллель 807T ( $\chi^2=6,42$ ;  $p=0,01$ ; OR=1,74) гена интегрин альфа-2 у жителей РА повышает риск развития болезней сердечного континуума примерно в 2 раза. Носительство патологического гомозиготного Pro715Pro генотипа ( $\chi^2=6,57$ ;  $p=0,04$ ; OR=3,07) и «мутантного» аллеля 715Pro ( $\chi^2=8,33$ ;  $p=0,004$ ; OR=2,89) тромбоцитарного P-селектина увеличивает риск развития мультифакторных ССЗ в 3 раза.

SNP гена эндотелиального E-селектина *Ser128Arg* может рассматриваться в качестве молекулярно-генетического предиктора тромбозов, ишемии головного мозга, ИМ, ИБС и др. нозологий среди населения РА. Аллель 128Arg гена *SELE* ( $\chi^2=4,81$ ;  $p=0,03$ ; OR=1,85) повышает риск развития ССЗ примерно в 2 раза и является прогностически неблагоприятным фактором.

Сведения, указывающие на возможную связь полиморфизмов генов *ITG* и *SEL* с предрасположенностью к развитию БА и ЗНО среди трудоспособного контингента населения РА, в наших исследованиях не подтвердились.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. С заболеваниями сердечного континуума у жителей Республики Адыгея ассоциированы: гомозиготный генотип T807T ( $\chi^2=7,54$ ;  $p=0,02$ ) и аллель 807T гена *ITGA2* ( $\chi^2=6,42$ ;  $p=0,01$ ), повышающие риск развития болезни примерно в 2 раза; патологически гомозиготный Pro715Pro генотип ( $\chi^2=6,57$ ;  $p=0,04$ ; OR=3,07) и «мутантный» аллель 715Pro гена *SELP* ( $\chi^2=8,33$ ;  $p=0,004$ ; OR=2,89), увеличивающие риск развития ССЗ в 3 раза.

2. Носительство 128Arg аллели гена *SELE* ( $\chi^2=4,81$ ;  $p=0,03$ ) увеличивает риск развития ССЗ примерно в 2 раза и может быть предложено в качестве молекулярно-генетического маркера для донозологической диагностики у жителей РА.

---

## ВОЗДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СЕМЕННУЮ ЖИДКОСТЬ *Homo sapiens*

**С.В. Тимофеева<sup>1,2</sup>, А.А. Александрова<sup>1</sup>, О.Н. Кузьмина<sup>1</sup>,  
Т.А. Шерчкова<sup>1</sup>, Л.В. Гутникова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Центр коллективного пользования «Высокие технологии» Южного федерального университета, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Мильчакова, 10

Email: timofeeva.sophia@gmail.com

Экспериментальными наблюдениями и клиническими исследованиями доказано, что ультразвук оказывает комплексное воздействие – механическое, тепловое и физико-химическое. Механическое действие ультразвука связано с микровибрациями на клеточном и субклеточном уровнях, что влияет на изменение вязкости растворов, устойчивости белков к ферментам, разжижения коллоидов. В клетке возникает кавитационный эффект – образование микрополостей, образуются сферические ударные волны и обменные нарушения: увеличивается проницаемость цитоплазматических мембран, меняется ионный состав клетки, адгезивные свойства, скорость

ферментативных реакций, а также задержка митотического деления [1]. Часть исследовательских групп описывает положительный эффект воздействия ультразвука, применяя его как физиотерапевтический фактор, усиливающий местные и обменные процессы, улучшающий трофику тканей, секреторную и экскреторную функции организма [2].

Целью данной работы была разработка и оптимизация эффективного подхода к изучению воздействия ультразвукового излучения на семенную жидкость. Материалом для исследований послужили образцы эякулята мужчин, проходивших обследование в диагностических центрах г. Ростова-на-Дону. Исследование семенной жидкости проводили с помощью электронно-оптических и цитологических методов на автоматическом спермоанализаторе SQA-V (Австрия-Израиль) ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ согласно рекомендациям ВОЗ.

Разработка модели исследования велась в нескольких направлениях: инвазивно и опосредованно в водной среде при использовании нескольких типов ультразвуковых устройств – ультразвуковой иглы (35 WATT, 45кГц) при интенсивности от 3 до 18 с и излучателя в водной среде (5 WATT, 50 Гц).

На первом этапе исследований результаты свидетельствовали о негативном эффекте прямого воздействия ультразвукового излучения на сперматозоиды. В зависимости от частоты и степени интенсивности, наличия или отсутствия внешнего препятствующего материала (стекло, пластик) с разной скоростью снижалось количество активно подвижных сперматозоидов, их жизнеспособность, изменялась морфология. Следующим этапом исследования будет изучено влияние терапевтических доз ультразвукового излучения на показатели эякулята, применяемого при медицинской реабилитации больных с патоспермией.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Литовченко Л.П., Хижняк Г.И. О вредном влиянии ультразвукового исследования на плод // Международный журнал экспериментального образования/ 2015. № 3: Мат-лы междунар. науч. конф. «Актуальные вопросы педиатрии и хирургии детского возраста», Республика Маврикий (Маврикий), 17–24 февраля 2015 г. С. 59–61.
2. Карпухин И.В., Кияткин В.А., Казанцев С.Н. Медицинская технология применения ультразвуковой терапии на поликлиническом, стационарном и санитарно-курортном этапах медицинских реабилитации больных с патоспермией. Пособие для врачей и научных работников // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры 5. М., 2013. С. 59–66.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки России грант № RFMEFI59414X0002 на оборудовании центра коллективного пользования «Высокие технологии» Южного федерального университета.*

---

## ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СРЕДСТВА ТЕРАПИИ ЭНДОМЕТРИОЗА

***Н.А. Ткачев, В.А. Сереженков***

*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, 4*

*E-mail: serezhenkov@polymer.chph.ras.ru, nitkachev@yandex.ru*

Эндометриоз – широко распространенное и социально значимое заболевание, при котором клетки эндометрия разрастаются за пределами нормальной локализации. Хирургическое вмешательство с последующей гормональной терапией связано со значительным количеством осложнений и рецидивов. Новым подходом к терапии эндометриоза может стать применение



доноров монооксида азота NO – эндогенного фактора, участвующего в регуляции множества физиологических процессов.

В ИХФ РАН ведутся исследования влияния соединений оксида азота на модель индуцированного эндометриоза у крыс. Обнаружено, что введение динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с глутатионом (формула  $(RS^-)_2Fe^{2+}(NO)_2$ ) приводит к угнетению роста эндометриоидных очагов. После 10-кратного введения комплекса в дозе 12 мкмоль/кг через месяц после операции объем очагов был снижен в 1,4–2,7 раз по сравнению с контролем [1]. При введении препарата спустя 4 дня после операции снижение среднего объема составляло более 40 раз, более 60 % имплантатов рассасывались бесследно [2]. Наблюдались и другие признаки регресса очагов: массовая лейкоцитарная инфильтрация внутри капсулы; гибель железистых клеток очага; отсутствие питающих очаг сосудов; отсутствие фермента рибонуклеотидредуктазы, необходимого для активной пролиферации. Аналогичное действие оказывал известный препарат метформин. Показано, что метформин способен быть донором NO [3], и именно этим можно объяснить его антидиабетическое и противоопухолевое действие.

Было проведено сравнительное исследование различных доноров NO, а именно, биядерных и моноядерных ДНКЖ с глутатионом, ДНКЖ с тиосульфатом, нитрозоглутатиона и метформина. Показано, что эффективность лечебного действия связана со скоростью высвобождения NO [4]. Проапоптотическое действие комплексов можно объяснить образованием вблизи быстро пролиферирующих тканей высоких концентраций свободного оксида азота. Последний способен блокировать гемсодержащие белки (например, ароматазу), или может способствовать образованию высокотоксичного пероксинитрита  $ONOO^-$ , в результате чего наступает гибель клеток в эндометриоидных очагах.

Как еще одно возможное объяснение действия ДНКЖ на эндометриоидные очаги, в качестве ключевого участка регуляции предлагается путь активации транскрипционного фактора каппа В (NF-κB), отвечающего за экспрессию множества пролиферативных, провоспалительных, онкогенных, антиапоптотических белков. Для сравнения исследовали воздействие фолликулярного гормона ингибина – естественного блокатора рецепторов трансформирующего ростового фактора бета (TGFβ). Введение ингибина оказывало на модель эндометриоза действие, аналогичное введению ДНКЖ с глутатионом: уменьшение среднего объема очагов до 10 раз, дегенерация железистой составляющей очага [5]. Мы предполагаем, что блокирование этого пути под действием как ингибина, так и оксида азота или его нитрозильных комплексов приводит к смещению баланса сигналов в клетке с пролиферации на апоптоз. Препарат «Эндоферин» на основе гормона ингибина зарегистрирован как лекарственное средство для лечения эндометриоза. Перспективной задачей остаётся разработка более надёжных, дешёвых и безопасных лекарственных средств на основе доноров оксида азота.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Адамян Л., Бургова Е., Ткачев Н., Микоян В., Степанян А., Сонова М., Ванин А. Динитрозильные комплексы железа с глутатионом купируют экспериментальный эндометриоз у крыс // Биофизика. 2013. Т. 58. Вып. 2. С. 302–312;
2. Burgova E., Tkachev N., Paklina O., Mikoyan V., Adamyan L., Vanin A. The effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione and S-nitrosoglutathione on the development of experimental endometriosis in rats: A comparative studies // Eur. Journ. Pharm. 2014. Vol. 741. P. 37–44;
3. Кузнецов И., Серезенков В., Романцова Т., Ванин А. Роль метформина как донора оксида азота в регуляции углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // Сахарный диабет. 2013. № 3. С. 41–45;
4. Серезенков В., Ткачев Н., Кузнецова М., Зайцев С. Ингибирующее влияние доноров оксида азота: моно и биядерных динитрозильных комплексов железа, нитрозотиола на основе глутатиона и метформина на модельный эндометриоз крыс // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2015. № 2. С. 39–46.
5. Хоперская О., Ильичев А., Бельков А., Бургова Е., Серезенков В., Ткачев Н., Сонова М., Маилова К., Зайратьянц О., Адамян Л., Ванин А. Влияние препарата «Индаптин» на экспериментально индуцированный эндометриоз у крыс // Проблемы репродукции. 2009. № 5. С. 52–58.

# ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ОРГАНОВ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

*А.Р. Тугуз, Е.Н. Анохина, И.В. Смольков, Е.А. Татаркова*

*Адыгейский государственный университет, НИИ комплексных проблем, иммуногенетическая лаборатория, Российская Федерация, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Первомайская 208  
E-mail: lab\_genetic@mail.ru;*

Медиаторы иммунной системы, регулирующие системные воспалительные реакции организма, вовлечены в патофизиологические процессы, включая и злокачественные новообразования. Фактором, определяющим двойственную роль цитокинов в развитии онкологических заболеваний, могут быть полиморфизмы промоторных участков их генов в виде точечных мутаций (SNP – singlenucleotidepolymorphisms), которые регулируют интенсивность экспрессии и биологические эффекты цитокинов.

Цель работы: типирование полиморфизмов генов IL-17A (G197A), IL-17F (A7488G, His161Arg), IL-2 (T330G), IL-12B (A1188C), IL-10 (G1082A, C819T, C592A), IL-4 (C589T), ассоциированных со злокачественными новообразованиями органов женской репродуктивной системы в этнических группах населения Республики Адыгея; выявление SNP-маркеров опухолевой прогрессии и прогностически неблагоприятных гистотипов низкодифференцированной аденокарциномы молочной железы. Исследование влияния полиморфизмов генов IL-17A (G197A), IL-2 (T330G), IL-10 (G1082A, C819T, C592A), IL-4 (C589T) на спонтанную и стимулированную *in vitro* продукцию цитокинов в культуре мононуклеарных клеток периферической крови (МНК) доноров и онкологических больных.

В соответствии с ФЗ РФ от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности исследованы образцы ДНК 343 женщин, в том числе 172 онкологических больных с гистологически верифицированными диагнозами злокачественных новообразований женских репродуктивных органов (молочной железы, яичников, тела и шейки матки), и 171 доноров без клинических проявлений онкопатологии и других хронических заболеваний. Генотипирование образцов ДНК проводили ПЦР с аллель-специфическими праймерами на коммерческих тест-системах НПФ «Литех» (Россия) и ООО «ДНК-технология» (Россия) с электрофоретической детекцией результатов и в режиме реального времени (PCR-RealTime). Качество геномной ДНК тестировано на спектрофотометре «NanoDrop 2000c» (ThermoScientific, USA). МНК выделены по методу (Boyum A., 1974). Уровни спонтанной и стимулированной *in vitro* продукции цитокинов МНК определены в ИФА. Статистический анализ частот генотипов, гаплотипов и аллелей генов цитокинов опытной и контрольной групп проведен с помощью критерия  $\chi^2$  (хи-квадрат), U-критерия Манна-Уитни, а достоверность различий концентраций цитокинов в образцах сывороток, культуральной среде МНК доноров и больных определены с использованием критерия Стьюдента (t) при уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Расчеты проведены в пакете программ SPSSStatistics 17.0 (Inc., Chicago, USA).

По SNP генов цитокинов в общих группах доноров и больных со ЗНО женских репродуктивных органов статистически значимые различия установлены для IL-17A (rs2275913, G197A), IL-17F (rs763780, A7488G, His161Arg); IL-12B (rs3212227, A1188C). С неоплазиями у русских женщин достоверно ассоциирована G197 аллель IL-17A ( $p=0,017$ ), а у этнических адыгов – 7488G (161Arg) полиморфизм IL-17F ( $p=0,003$ ). Для A1188C SNP гена IL-12B, повышающего цитотоксическую активность естественных киллеров подтверждена ассоциированность A1188A генотипа и A1188 аллеля (соответственно,  $p=0,004$  и  $p=0,002$ ) с ЗНО органов женской репродуктивной системы только в этнической группе русских женщин. По SNP (rs2069762, T330G) гена IL-2 между донорами

и больными с ЗНО женских репродуктивных органов у русских и адыгов достоверных различий не установлено. У онкологических больных по сравнению с донорами статистически значимо повышены частоты 589Т аллели IL-4 ( $p=0,02$ ) и 819Т полиморфизма IL-10 ( $p=0,04$ ). ЗНО у адыгов ассоциированы с 592А SNP гена IL-10 ( $p=0,02$ ). С низкодифференцированной аденокарциномой ассоциированы SNP провоспалительного IL-17A (G197 аллель,  $p=0,031$ ) и противовоспалительного IL-10 (G1082 аллель,  $p=0,02$ ). Маркерами прогностически неблагоприятных гистотипов низкодифференцированной аденокарциномы молочной железы являются G197 аллель IL-17A и G1082 полиморфизм гена IL-10. Метастазирование в регионарные лимфатические узлы сопряжено с повышением частот полиморфных вариантов генов IL-2 (Т330 аллели,  $p=0,03$ ), провоспалительного IL-12В (А1188,  $p=0,04$ ), противовоспалительных IL-4 (589Т,  $p=0,03$ ) и IL-10 (819Т,  $p=0,05$ ).

Сывороточные концентрации IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 IL-17A у доноров и онкологических больных достоверно не различаются и не зависят от исследованных SNP промоторных регионов генов цитокинов, однако влияют на уровни спонтанной и стимулированной *in vitro* ФГА продукции мононуклеарными клетками IL-4, IL-10: С589Т-генотип IL-4 и G1082 аллель IL-10 в гомо- и гетерозиготном состоянии достоверно снижают спонтанную продукцию медиаторов, а С819Т, С592А, С592С полиморфизмы IL-10 повышают уровень противовоспалительного цитокина в культуральной среде интактных МНС доноров. У больных с ЗНО в культуре интактных и стимулированных ФГА МНС концентрации про- и противовоспалительных цитокинов не зависят от генотипов промоторных регионов соответствующих генов, но статистически значимо снижены по сравнению с донорами в отношении всех исследованных SNP.

Таким образом, со злокачественными новообразованиями органов женской репродуктивной системы у жителей РА ассоциированы аллельные варианты и генотипы IL-17A (G197), IL-17F (161Arg, His161Arg генотип), IL-12В (А1188, А1188А генотип), IL-4 (589Т, Т589Т генотип). Метастазирование в регионарные лимфатические узлы у больных ЗНО связано с повышением частот аллелей: Т330 гена IL-2, 589Т IL-4, 819Т IL-10, А1188 – IL-12В. Полиморфные варианты промоторных регионов генов IL-4 и IL-10 влияют на продукцию соответствующих медиаторов РВМС доноров: С589Т-генотип IL-4, гомозиготные G1082G и гетерозиготный G1082А генотипы IL-10 снижают, а С819Т, С592А, С592С генотипы IL-10 *in vitro* повышают спонтанную продукцию цитокинов РВМС.

---

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ВКЛЮЧЕНИЙ $\alpha$ -СИНУКЛЕИНА В БИОПСИЙНОМ МАТЕРИАЛЕ ПОДЪЯЗЫЧНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА**

***К.К. Хачева<sup>1</sup>, В.Б. Соболев<sup>2</sup>, А.А. Никитин<sup>3</sup>, Р.М. Худоерков<sup>2</sup>***

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Ленинские горы, 1

<sup>2</sup>Научный центр неврологии РАМН, отдел исследования мозга, лаборатория функциональной морфохимии, 105064, Российская Федерация, г. Москва, пер. Обуха, 5

<sup>3</sup>Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, 129110, Российская Федерация, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2

E-mail: christina.khacheva@gmail.com

Болезнь Паркинсона – нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся прогрессирующей гибелью дофаминергических нейронов в ядре черной субстанции в области среднего

мозга человека. Нейродегенерация приводит к разобщению связей между компонентами экстрапирамидной системы, увеличению тормозной активности базальных ганглиев и подавлению двигательных отделов коры с развитием нарушения двигательной активности. При изучении патоморфологии черной субстанции на препаратах, помимо уменьшения доли функционирующих нейронов, в пораженной области обнаруживаются тельца Леви – внутриклеточные агрегаты  $\alpha$ -синуклеина ( $\alpha$ -syn). Кроме того, в литературе описано появление телец Леви не только в центральной, но и в периферической нервной системе: в сплетениях толстой кишки и кожи [1]. Согласно классификации Н. Braak [2], отложение  $\alpha$ -syn в компонентах периферической нервной системы и каудальных отделов ствола является непосредственным признаком самой ранней стадии заболевания. Из клинических наблюдений известно, что на ранних стадиях БП наблюдается сиалоррея, являющаяся признаком нарушения периферической иннервации крупных слюнных желез, в связи с чем в настоящее время рассматривается вопрос об обнаружении телец Леви в биоптатах слюнной железы у данных пациентов [3] и о возможности разработки диагностического клинко-морфологического теста для ранней верификации болезни Паркинсона.

В данной работе проведена иммуногистохимическая оценка включений  $\alpha$ -syn в образцах биопсийного материала большой подъязычной слюнной железы человека. Исследовали 8 инцизионных биопсий слюнной железы от пациентов с клинически подтвержденным диагнозом БП и 2 контрольных образцов. Серии парафиновых и криотомных срезов толщиной 10 мкм изучали иммуногистохимически по флуоресцентной методике с использованием первичных поликлональных кроличьих антител (ат) к  $\alpha$ -syn (1:200; Sigma, США), моноклональных мышинных антител к фосфорилированному  $\alpha$ -syn (1:1000, 1:2000; Wako, Япония), поликлональных кроличьих ат к тирозингидроксилазе (1:500; Sigma, США), кроличьих антител к b3- тубулину (1:50, 1:200; Thermo Scientific, США), вторичных кроличьих FITC-конъюгированных антител, выработанных против антител мыши (Sigma). Для иммуноферментного выявления двойной метки (мышинных и кроличьих антител) использовали набор Thermo Scientific MultiVision, основанный на полимерной системе детекции, и включавший две ферментных метки: пероксидазу (хромоген -аминоэтилкарбазол) и щелочную фосфатазу (хромоген – Fast blue BB и нафтол-AS-MX-фосфат). Кроме того, для визуализации морфологической структуры и контроля препарата срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Для каждой серии препаратов проводили негативный контроль.

По результатам морфологического исследования была показана сохранность структуры препаратов и типичное расположение основных компонентов ткани большой слюнной железы. Нефосфорилированный  $\alpha$ -syn одинаково хорошо визуализировался как в материале, полученном от группы контроля, так и от пациентов с БП. Фосфорилированный  $\alpha$ -syn, расположенный в крупных нервных пучках в стенке сосудов стромы и по периферии междольковых протоков, был найден только в препаратах, полученных от пациентов (в 6 случаях из 8). При этом его локализация совпадала с расположением нефосфорилированного  $\alpha$ -syn.

В большинстве случаев в группе пациентов с болезнью Паркинсона (5 из 8) наблюдали совместное расположение включений, меченых на тирозингидроксилазу и  $\alpha$ -syn. В контрольных образцах накопления фосфорилированного  $\alpha$ -syn в нервных волокнах, локализованных в стенке сосудов, и по периферии протоков не выявлено.

Таким образом, данные проведенного исследования позволяют рассмотреть возможность прижизненного исследования биопсийного материала слюнных желез в качестве перспективного метода диагностики болезни Паркинсона на ранних стадиях развития заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Doppler K., Ebert S., Uçeyler N., Trenkwalder C., Ebentheuer J., Volkman J., Sommer C. Cutaneous neuropathy in Parkinson's disease: a window into brain pathology // *Acta Neuropathol.* 2014. Vol. 128(1). P. 99–109.
2. Braak H.J. Parkinson's disease: premotor clinico-pathological correlations // *Neural Transm. Suppl.* 2006. Vol. 70. P. 309–319. PMID: 17017546109Del.
3. Tredici K., Hawkes C.H., Ghebremedhin E., Braak H. Lewy pathology in the submandibular gland of individuals with incidental Lewy body disease and sporadic Parkinson's disease // *Acta Neuropathol.* 2010. Vol. 119. № 6. P. 703–713. doi 10.1007/s00401–010–0665–2.

# ИЗУЧЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА ENTEROBACTERIACEAE

*М.А. Шкурат, И.О. Покудина*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: ipokudina@mail.ru*

Бета-лактамы препараты в настоящее время составляют более половины всех используемых в мире антибиотиков. Однако все чаще встречаются случаи клинической неэффективности лекарственной терапии данной группой антибиотиков вследствие развития устойчивости микроорганизмов к их действию, которая приняла угрожающий характер по всему миру [1].

Основным механизмом возникновения антибиотикорезистентности у организмов семейства Enterobacteriaceae к бета-лактамам антибиотикам (БЛА) является появление случайных мутаций, изменяющих спектр активности бактериальных ферментов – бета-лактамаз. Мутации могут возникать достаточно быстро – известны случаи, когда микроорганизмы становились нечувствительными к антибиотикам в течение курса лечения, что осложняет постановку правильного диагноза, выбор адекватного способа лечения, увеличивает неэффективность терапии, продолжительность и стоимости лечения [2].

Тестирование устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к антибиотикам проводится как на «микро» уровне, когда определяется резистентность в отдельном клиническом учреждении или у отдельной группы пациентов, так и на «макро» уровне, когда проводятся межцентровые, национальные и интернациональные исследования.

В настоящее время установлено, что происходит рост числа штаммов, продуцирующих одновременно несколько различных  $\beta$ -лактамаз [3].  $\beta$ -лактамазы обнаружены у широкого спектра энтеробактерий, преимущественно у *E. coli* и *K. pneumoniae*, которые являются одними из наиболее распространенных по всему миру грам-отрицательных бактерий с множественной лекарственной устойчивостью [1].

Целью нашей работы было исследование резистентности бактерий семейства Enterobacteriaceae к различным группам БЛА для выявления распространения множественной антибиотикоустойчивости и возможности продукции различных  $\beta$ -лактамаз. Были протестированы *E. coli* (22 изолята) и *Klebsiella pneumoniae* (36 изолятов), выделенные из биопроб амбулаторных пациентов г. Ростова-на-Дону. В исследование включали изоляты со сниженной чувствительностью хотя бы к одному из  $\beta$ -лактамов до уровня, предлагаемого Национальным комитетом по клиническим лабораторным стандартам США – CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institution, 2007). У всех изолятов была исследована чувствительность к основным группам БЛА: пенициллинам (ампициллину, амоксициллину, оксациллину), цефалоспорином I, II, III, IV поколения (цефазолину, цефуроксиму, цефотаксиму, цефепиму) и карбапенемам (имипенему, дорипенему).

На основании анализа профилей чувствительности к БЛА было установлено, что среди образцов преобладают изоляты, обладающие детерминантами устойчивости только к пенициллинам: 100 % *K. pneumoniae* и 81,8 % *E. coli*. Около 50 % *K. pneumoniae* одновременно обладают детерминантами устойчивости к пенициллинам и цефалоспорином I–IV поколения. У *E. coli* множественная устойчивость к БЛА зарегистрирована у 40 % изолятов. Все исследованные изоляты оказались чувствительны к  $\beta$ -лактамам группы карбопенемов.

Известно, что первичная информация о характере  $\beta$ -лактамаз может быть получена на основании анализа профилей чувствительности штаммов-продуцентов к  $\beta$ -лактамам [4]. В нашем

исследовании оценка и интерпретация способности бактерий гидролизовать β-лактамы различных групп позволяет предположить наличие у бактерий генов, продуцирующих β-лактамазы широкого и расширенного спектра действия: bla<sub>TEM</sub>, bla<sub>SHV</sub> и bla<sub>CTX-M</sub>.

Таким образом, в проведенном исследовании, выявлены полирезистентные штаммы среди возбудителей внебольничных инфекций, что увеличивает опасность контаминации здорового населения и окружающей среды.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Breurec S., Guessennd N., Timinouni M., Le T.A., Cao V., Ngandjio A., Randrianirina F., Thiberge J.M., Kinana A., Dufougeray A., Perrier-Gros-Claude J.D., Boisier P., Garin B., Brisse S. Klebsiella pneumoniae resistant to third-generation cephalosporins in five African and two Vietnamese major towns: multiclonal population structure with two major international clonal groups, CG15 and CG258 // Clin. Microbiol. Infect. 2013. Apr. Vol. 19(4). P. 349–355. PMID:22390772
2. Schwaber M.J., Klarfeld-Lidji S., Navon-Venezia S., Schwartz D., Leavitt A., Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality // Antimicrob. Agents. Chemother. 2008. Mar. Vol. 52(3). P. 1028–1033. Epub 2007 Dec 17. PMID:18086836
3. Рубцова М.Ю., Уляшова М.М., Бахман Т.Т. и др. Мультипараметрическое определение генов и точечных мутаций в них для идентификации бета-лактамаз // Успехи биологической химии. 2010. Т. 50. С. 303–348.
4. Эйдельштейн М.В., Пимкин М.А. Молекулярно-генетический метод выявления резистентности к цефалоспорином у бактерий семейства Enterobacteriaceae, обусловленной продукцией β-лактамаз расширенного спектра CTX-M типа // Методические рекомендации. Смоленск, 2001.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности № 1878 «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».*

---

## АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СЕЛЕКТИНОВ И ИНТЕГРИНОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ КОРОНАРНОГО И ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

*Д.С. Шумилов<sup>1</sup>, И.В. Смольков<sup>1</sup>, Е.А. Татаркова<sup>1</sup>, Т.М. Ашканова<sup>2</sup>,  
А.Р. Пшидаток<sup>2</sup> А.Р. Тугуз<sup>1</sup>, К.А. Руденко<sup>1</sup>, Д.В. Муженя<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Адыгейский государственный университет, НИИ комплексных проблем, 385000, Российская Федерация, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208

<sup>2</sup>Адыгейская республиканская клиническая больница, 385000, Российская Федерация, г. Майкоп, ул. Жуковского, 4

Email: Lab\_genetic@mail.ru

Оверэкспрессия адгезивных молекул (селективов и интегринов) на фиброзной бляшке эндотелия сосудов разных бассейнов запускает молекулярные механизмы атерогенеза, обуславливая последствия коронарного и периферического атеросклероза: инфаркты миокарда (ИМ), мозговые инсульты, окклюзии вен нижних конечностей – основные причины инвалидизации и смертности трудоспособного населения Республики Адыгея.

В мировых популяциях, по данным международных баз HuGen, Ensemble, PubMed (2010–2015 гг.), нарушения экспрессии адгезивных молекул зачастую связывают с SNP (single nucleotide

polymorphisms) в генах интегринов ITG (*ITGA2* C807T, rs1126643, *ITGB3* Leu33Pro, rs5918) и селектинов SEL (*SELE* Ser128Arg, rs5361, *SELP* Thr715Pro, rs6136)

Целью работы является определение прогностической значимости полиморфных вариантов генов интегринов (*ITGA2* C807T; *ITGB3* Leu33Pro) и селектинов (*Ser128Arg*; *SELP* Thr715Pro) в генезе заболеваний, развившихся на фоне коронарного и периферического атеросклероза у жителей Республики Адыгея (РА)

Задачи: 1. Анализ распределения мутаций генов интегринов (*ITGA2* C807T; *ITGB3* Leu33Pro) и селектинов (*Ser128Arg*; *SELP* Thr715Pro) в обследованных группах больных с ССЗ и доноров. 2. Выявление полиморфизмов генов молекул адгезии, ассоциированных с периферическим и коронарным атеросклерозом.

Контрольная группа представлена неродственными донорами ( $n=64$ ) в возрасте  $27,32\pm 7,4$  лет без наследственной отягощенности и клинических проявлений ССЗ, что подтверждено данными инструментальных исследований (по данным осмотра, регистрации АД и ЭКГ) в условиях ЛПУ г. Майкопа. Больные с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) ( $n=188$  из них с ПА  $n=41$ , КА  $n=147$ ) – пациенты отделений кардиологии, нейрохирургии и хирургии сосудов АРКБ (г. Майкоп, Республика Адыгея), в возрасте  $50,16\pm 11,2$  лет с мозговыми инсультами, окклюзиями и стенозами аорто-подвздошных сегментов, различными формами ишемической болезни сердца (ИБС), развившимися на фоне атеросклеротических изменений коронарных артерий и периферических сосудов. Клинические диагнозы подтверждены стандартными биохимическими показателями крови (дислипидемия), данными неинвазивных скрининговых и углубленных инструментальных исследований: ЭКГ, Холтеровского мониторирования ЭКГ, нагрузочных проб (велозергометрии либо Трэдмил-теста) ультразвуковой доплерометрии и ангиография сосудов нижних конечностей, ультразвукового триплексного сканирования сосудов нижних конечностей и брахиоцефальных артерий, эхокардиографии (ЭХО–КС).

Распределение полиморфизмов генов интегринов *ITG* (*ITGA2* C807T, rs1126643, *ITGB3* Leu33Pro, rs5918), селектинов *SEL* (*SELE* Ser128Arg, rs5361, *SELP* Thr715Pro, rs6136) исследовано SNP-методом с аллель-специфичными праймерами (на тест-системах НПФ «Литех», Москва). Соответствие распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и сравнение частот аллельных вариантов/генотипов адгезивных молекул ITG, SEL проводили с использованием критерия  $\chi^2$  (кси-квадрата) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йэйтса на непрерывность и расчетом отношения шансов (odds-ration, или OR), 95 % доверительного интервала (95 % CI) при  $p < 0,05$ .

Ассоциированность с ССЗ установлена для полиморфизмов C807T гена *ITGA2*, эндотелиального *SELE* (*Ser128Arg*), и аллельных вариантов тромбоцитарного *SELP* (*Thr715Pro*) селектинов. В группе больных КА повышена частота «мутантного» 715Pro аллеля гена *SELP* ( $\chi^2=11,99$ ,  $p=0,0006$ ), у носителей 715Pro полиморфизма более чем в 4 раза возрастает риск развития КА. Патологическая гомозиготная 807T аллель гена *ITGA2* ( $\chi^2=36,8$ ;  $p>0,001$ ) в 9 раз увеличивает вероятность ПА. Прогностически неблагоприятным фактором развития ПА является также носительство 128Arg аллели гена *SELE* ( $\chi^2=13,21$ ,  $p=0,0003$ , OR=3,31). Частоты SNP генов *ITGB3* (Leu33Pro), *ITGA2* (C807T) и *SELP* (Thr715Pro) у доноров и в общих группах с ССЗ и у пациентов с КА и ПА достоверно не различаются.

В ходе исследований нами выявлена ассоциация 715Pro аллеля гена *SELP* ( $\chi^2=11,99$ ,  $p=0,0006$ ) с риском развития КА, 807T и 128Arg аллелей генов *ITGA2* ( $\chi^2=36,8$ ;  $p>0,001$ ) и *SELE* ( $\chi^2=13,21$ ,  $p=0,0003$ , OR=3,31) с ПА. Полученные данные могут быть использованы для донозологической диагностики заболеваний, развивающихся на фоне периферического и коронарного атеросклероза: ишемического и геморрагического инсульта, ИБС, ИМ, хронической сердечной недостаточности и других болезней сердечного континуума.

# НОВЫЕ ПОДХОДЫ В РАЗРАБОТКЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ ВЕКТОРНЫХ МОЛЕКУЛ И ПОЛИАМИДОАМИНОВЫХ ДЕНДРИМЕРОВ

***Н.Г. Яббаров<sup>1</sup>, Е.Д. Никольская<sup>1</sup>, И.Г. Кондрашева<sup>2</sup>, Е.С. Северин<sup>2</sup>***

<sup>1</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А. Герцена» Министерства здравоохранения РФ, 249031, Российская Федерация, г. Обнинск, ул. Жукова, 10

<sup>2</sup>Институт молекулярной диагностики, 117149, Российская Федерация, г. Москва, Симферопольский бульвар, 8  
E-mail: nikita\_yabbarov@yahoo.com

Противоопухолевые препараты, доступные на сегодняшний день на рынке, не всегда могут гарантировать удовлетворительный результат из-за наличия широкого ряда проблем, в том числе, одна из основных – низкая селективность действия. Для их преодоления, зачастую, используют повышенные дозы высокотоксичных противоопухолевых соединений, что часто приводит к возникновению системных побочных эффектов и повышает риск возникновения множественной лекарственной устойчивости. Одним из самых эффективных путей увеличения эффективности действия противоопухолевых препаратов является разработка новых подходов в области направленной доставки химиотерапевтических агентов в опухолевые клетки. В нашем случае направленный транспорт обеспечивается конъюгацией противоопухолевого препарата с векторными молекулами, являющимися лигандами рецепторов, экспрессирующихся опухолевыми клетками. Использование лигандов опухолеспецифических рецепторов в качестве векторных молекул позволяет доставлять противоопухолевые препараты в целевые клетки за счет рецептор-опосредованного эндоцитоза, минуя действие АВС-транспортёров. Такой подход позволяет не только увеличить селективность действия препарата, но и частично, или полностью преодолеть множественную лекарственную устойчивость. Более того, использование полимерных носителей, конъюгированных с векторными молекулами, в качестве макромолекулярных носителей противоопухолевых препаратов, позволит значительно увеличить степень интернализации доставляемого препарата целевыми клетками и повысить, тем самым, эффективность его действия.

Синтезированные в нашей лаборатории комплексы направленного действия, представляют собой макромолекулярный носитель, конъюгированный с противоопухолевым препаратом. В качестве векторной составляющей нами были использованы несколько лигандов рецепторов эпидермального фактора роста и альфа-фетопротейна. В качестве макромолекулярного носителя для противоопухолевого препарата – доксорубицина, были использованы полиамидоаминовые (ПАМAM) дендримеры. Был проведен ряд *in vitro* тестов характеризующих скорость интернализации конъюгатов, внутриклеточное распределение и их цитотоксическую активность в отношении таких линий опухолевых клеток как A549, MCF7, MCF7Adr, SKOV3, SKVLB. Полученные результаты позволяют говорить о высоком потенциале подобных средств адресной доставки не только противоопухолевых препаратов, но и других биологически активных соединений.

*Работа была выполнена за счет средств гранта Российского Научного Фонда # 15–15–10013.*



## THE EFFECT ETHYLENE GLYCOL ON MORPHOLOGY AND OXYGEN REDUCTION REACTIONS ON VULCAN XC72 CARBON SUPPORTED PT NANOMATERIALS

*Weldegebriel Yohannes, S.V. Belenov, V.E. Guterman, L.M. Skibina,  
V.A. Volotchaev, N.V. Lyanguzov*

*Southern Federal University, Chemistry Faculty, R. Zorge st., 7, Rostov-on-Don, Russian Federation,  
344090*

*E-mail: wyohannes2001@gmail.com*

Pt nanomaterials have received considerable attention in recent years because of their importance in a wide range of applications such as electrocatalyst, sensors, and low temperature fuel cells [1, 2].

In the present work, several Pt/C catalysts are prepared by employing the technique of galvanostatic electrodeposition from water and different compositions of the binary solvent water-EG. The following study examines the influence of water and different water – EG compositions on the distribution, size and morphology of Pt particles using scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD). In addition, the electrocatalytic activity toward oxygen reduction reaction (ORR) on a high-surface area Vulcan XC72 carbon supported Pt catalyst was also analyzed by employing linear sweep voltammetry at a rotating disc glassy carbon electrode coated with thin Nafion-bonded Vulcan XC-72 carbon layer. The effects of some surfactants such as potassium citrate, Nafion, polyvinylidene difluoride (PVDF) on size, morphology, distribution, and ORR electroactivity of the prepared nanomaterials were also investigated.

The Pt particles electrodeposited from water solution are rather larger and with less uniformly distributed Pt particles (Fig.1 *a,b*), which may be attributed to the agglomeration of the particles, whereas when using a two-component solution of water and EG, Pt particle size decreases and particularly, the smallest particle size are obtained while using higher amount of EG (1:1 water-EG solution) (Fig.1 *e,f*). The size of the Pt particles is in the order of Pt (50 %) < Pt (1 %) < Pt (0 %) (Fig. 1). The Pt particle growth is possibly taken place by electrodeposition of Pt on the surface of the existing Pt particle or due to aggregation of smaller particles to bigger particles to decrease surface energy. The inhibition or minimizing effects of EG on particles growth have obvious influence on the distribution, size and morphology of Pt particles on the carbon support as can be observed from the SEM images (Fig. 1).

The electrochemical measurements indicate a better oxygen reduction mass activity for the material Pt50 and Pt1 (Table 1 and Fig. 2) than that of Pt0. That is, electrocatalytic activities towards oxygen reduction reactions for the Pt catalyst electrodeposited in the presence of EG are significantly improved when we compare them to the catalyst without EG. It can be observed that the catalyst Pt50 (with a current of 12.44 Ag<sup>-1</sup> of Pt) has more than 15-fold enhancement in the mass activity at 0.75 V (vs. SHE) than that of Pt0 (with a current of 1.74 Ag<sup>-1</sup> of Pt). Pt1 (10.79 Ag<sup>-1</sup> of Pt) has almost 14 times higher mass activity when compared it to the catalyst obtained without EG (Pt0). In general, it is possible to draw the conclusion that ethylene glycol has a positive effect in increasing the activity of the prepared catalysts in the oxygen electroreduction reactions.

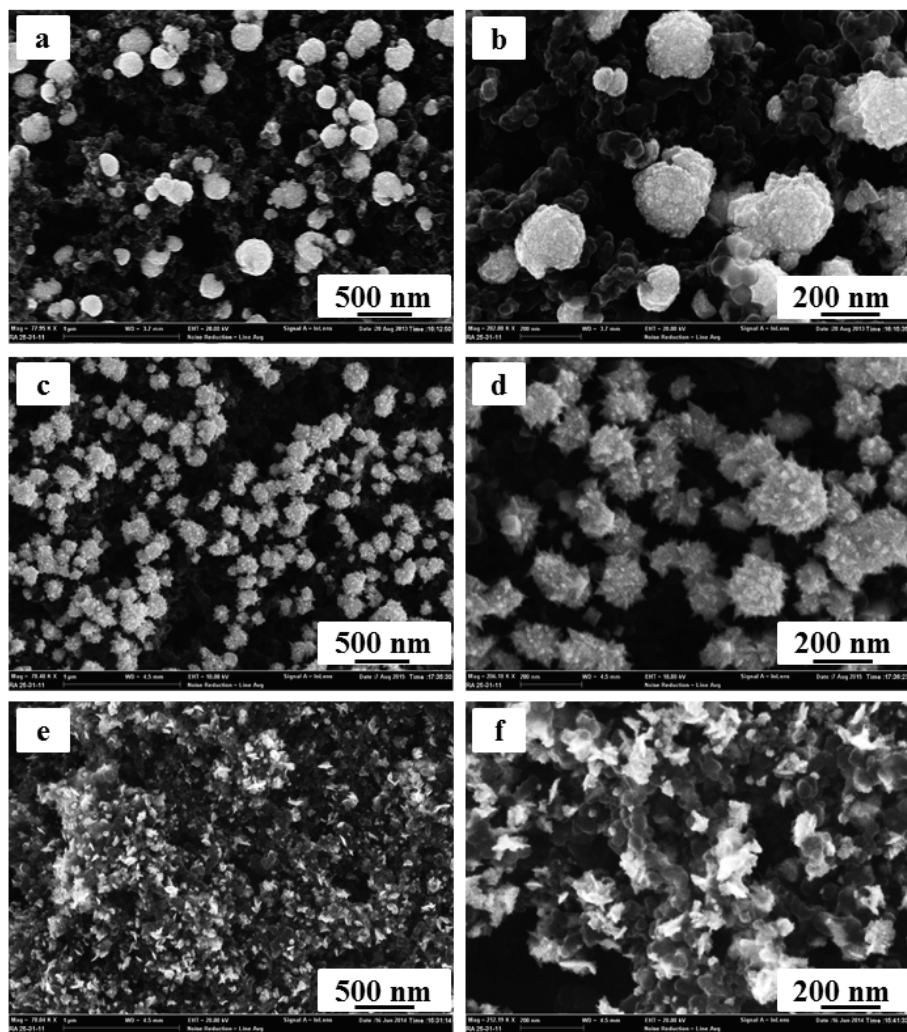


Fig. 1. Pt nanoparticles electrodeposited from solutions of different compositions: a, b – water; c, d – EG – water (1 % EG); e, f – water-EG (50 % EG)

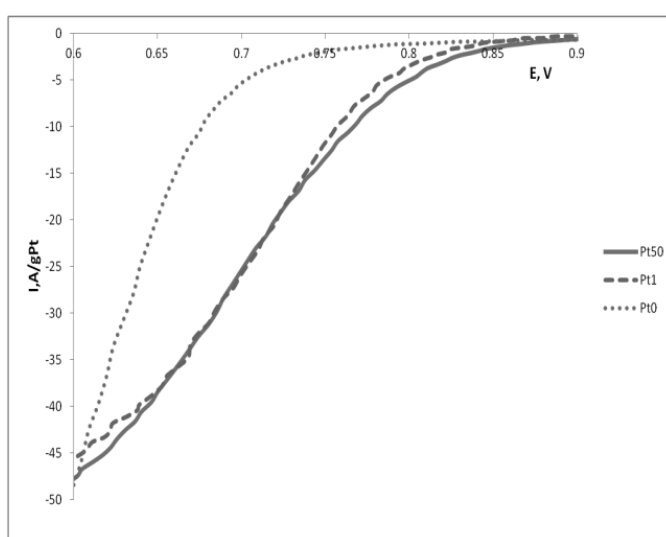


Fig. 2. LSV curves for the Pt/C catalysts. Electrolyte – 0.1 M  $\text{HClO}_4$  saturated with  $\text{O}_2$  at room temperature, scan rate –  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , rotating speed – 1000 rpm

Characteristics Pt/C catalysts prepared by electrodeposition

Sample	Mass activity, $I_{\text{mass}}$ ( $\text{Ag}^{-1}$ of Pt)		
	Potential value, V		
	0.75	0.78	0.8
Pt0	1.74	1.19	1.0
Pt1	10.79	5.51	3.31
Pt50	12.44	7.16	4.58

## REFERENCES

1. Wang Y., Chen, K.S., Mishler J., Cho S.C., & Adroher X.C. A review of polymer electrolyte membrane fuel cells: technology, applications, and needs on fundamental research // Applied Energy. 2011. Vol. 88(4). P. 981–1007
2. Yang D., Sun S., Meng H., Dodelet J., Sacher E. Formation of a Porous Pt Nanoparticle Froth for Electrochemical Applications, Produced without Templates, Surfactants, or Stabilizers // Chem. Mater. 2008. Vol. 20 (14). P. 4677–4681.

## ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА АКВАБИОЦЕНОЗЫ

*А.Е. Аринжанов<sup>1</sup>, Е.П. Мирошникова<sup>1,2</sup>, Ю.В. Килякова<sup>1</sup>,  
Е.А. Сизова<sup>1,2</sup>, С.А. Мирошников<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Оренбургский государственный университет, 460018, Российская Федерация, г. Оренбург, пр. Победы 13

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства, 460000, Российская Федерация, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29

E-mail: arin.azamat@mail.ru; elenaakva@rambler.ru; Sizova.L78@yandex.ru

В настоящее время наноматериалы рассматриваются как вещества с уникальными свойствами, и стремительный рост их использования в промышленности неизбежно приводит к попаданию их в экосистему.

На данный момент общие закономерности влияния наноматериалов на водные экосистемы недостаточно изучены.

Цель данного исследования – изучение действия наночастиц металлов, в частности  $\text{SiO}_2$ (II) и  $\text{CeO}_2$  на аквабиоценозы.

В качестве тест-объекта были использованы: ряска малая (*Letna minor* L.), прудовик обыкновенный (*Limnea stagnalis*), данио-рерио (*Danio rerio*).

Условия выращивания и содержания объектов исследования соответствовали правилам OECD [1].

Подготовку препарата наночастиц проводили на ультразвуковом диспергаторе (f-35 кГц, N-300 Вт, A-10 мкА), путем диспергирования в течение 30 мин. Размер наночастиц определяли с использованием электронного микроскопа JSM-740 IF (табл.). Действие наночастиц исследовались в двух концентрациях: 10 и 100 мг/дм<sup>3</sup>.

## Характеристики используемых наночастиц металлов

Наименование наночастиц	Размер, нм	Химический и фазовый состав	Метод получения	Удельная поверхность ( $S_{уд}$ , м <sup>2</sup> /г)
SiO <sub>2</sub> (II)	40,9	SiO <sub>2</sub> : 99,8 %, Cl <sub>2</sub> : менее 0,2 %	Газофазный	55,4
CeO <sub>2</sub>	15,8	CeO <sub>2</sub> : 99,8 %	Газофазный	49,6

Наночастицы вводили через корма для рыб (замороженные личинки комаров семейства Chironomidae) один раз в 7 суток в течение месяца [2]. Период эксперимента составил 3 месяца.

В период исследований учитывали внешний вид, поведение, выживаемость тест-объектов [3]. Характер и частота дыхания, поедаемость корма, состояние кожных покровов, плавников, жабр, органов зрения у рыб были в пределах нормы в течение всего опытного периода во всех опытных группах. В ходе проведенных исследований было установлено, что в группах с наночастицами CeO<sub>2</sub> к концу эксперимента зафиксировано 100 %-ная гибель *Danio rerio*, а в группах с SiO<sub>2</sub> (II) выживаемость рыб составила 100 и 33 % при дозировках 10 и 100 мг/дм<sup>3</sup>, соответственно. *Limnea stagnalis* оказались более токсикорезистентными к наночастицам металлов – выживаемость в течении всего эксперимента во всех опытных группах составила 100 %. *Lemna minor* отреагировала на воздействие наночастиц изменением цвета листочков, в частности, при действии наночастиц CeO<sub>2</sub> отмечено изменение окраски от зеленого до белого цвета, а также подсыхание листочков и их разъединение.

Таким образом, наночастицы CeO<sub>2</sub> более токсичны по сравнению SiO<sub>2</sub> (II), что отразилось на выживаемости *Danio rerio* и на состоянии *Lemna minor*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. OECD, Guideline for Testing of Chemicals, Guideline 203. Fish, Acute Toxicity Test, Organization of Economic Cooperation, Development, Paris, France, 1992. 9 pp.
2. Piccinetti C.C., Montis C., Bonini M., Laurà R., Guerrera M.C., Radaelli G., Vianello F., Santinelli V., Maradonna F., Nozzi V., Miccoli A., Olivotto I. Transfer of silica-coated magnetic (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles through food: a molecular and morphological study in zebrafish // Zebrafish. 2014. Dec/ Vol. 11(6). P. 567–579.
3. Siström C.L. and Garvan C.W. Proportions, odds, and risk // Radiology. 2004. Vol. 230. № 1. P. 12–19

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда № 14–36–00023.

## НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ НОСИТЕЛИ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ В МОЗГ ПОСРЕДСТВОМ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

**Т.В. Букреева<sup>1,2</sup>, И.В. Марченко<sup>1,2</sup>, М.А. Ванцян<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1

<sup>2</sup>Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова Российской академии наук, 119333, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский проспект, 59

E-mail: bukreeva@crys.ras.ru; iramarchenko85@mail.ru; mikhvan@yahoo.com

Интраназальный способ введения лекарственных препаратов имеет ряд преимуществ перед другими способами, основное из которых – возможность доставки в головной мозг, минуя

гематоэнцефалический барьер. Нами разработан оригинальный подход к созданию высокоэффективных лекарственных форм для интраназальной доставки лекарств в мозг, заключающийся в применении микроконтейнеров на основе наноструктурированных неорганических частиц с оболочкой из мукоадгезивных полимеров [1].

В качестве основы контейнеров интраназальной доставки использовали пористые сферические микрочастицы карбоната кальция в модификации ватерита. После загрузки таких частиц целевыми соединениями на поверхности формировали оболочку методом послойной адсорбции полиэлектролитов. Полимерная оболочка позволяет разрабатываемым контейнерам дольше удерживаться на поверхности назальной слизистой, также обеспечивая защиту препарата от внешних воздействий (например, ферментативного разложения). Принципиально важно, что микронные контейнеры не позволяют частицам-носителям проникать в мозг, обеспечивая прохождение только молекул функционального соединения.

Проведена загрузка разработанных контейнеров лекарственными препаратами – обезболивающим лоперамидом и снотворным последнего поколения золпидемом. Интраназальное введение золпидема позволит избежать недостатков прохождения через желудочно-кишечный тракт и повысить эффективность препарата. Лоперамид, как известно, в свободном виде не проникает через гематоэнцефалический барьер. Спектрофотометрически определена загрузка контейнеров лоперамидом и золпидемом, изучены динамика высвобождения функциональных соединений в воде и физиологическом растворе и влияние полимерной оболочки на этот процесс. Эффективность действия контейнеров была продемонстрирована с использованием тестов *in vivo* на лабораторных грызунах на примере доставки в мозг центрального анестетика лоперамида.

#### ЛИТЕРАТУРА

Ковальчук М.В., Бородина Т.Н., Дегтев И.В., Моисеева Ю.В., Марченко И.В., Гуляева Н.В., Букреева Т.В. Фармакологическая композиция, предназначенная для интраназального введения с целью доставки в мозг фармакологически активного компонента, и способ ее получения. Патент РФ № 2475233..

---

## ИММУНОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ БИОГЕННЫХ МЕТАЛЛОВ *IN VITRO* И *IN VIVO*

***Е.Ю. Златник, Г.И. Загора, А.В. Бахтин, О.Н. Селютина***

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Минздрава РФ, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63  
E-mail: [rnioi@list.ru](mailto:rnioi@list.ru); [elena-zlatnik@mail.ru](mailto:elena-zlatnik@mail.ru)

Биогенные металлы (Fe, Cu, Zn) принимают участие во многих метаболических процессах, включая происходящие в иммунной системе. Исследование наночастиц этих металлов показало их различные биологические эффекты, в том числе, противоопухолевое действие, установленное нами ранее на культурах клеток и на моделях перевиваемых опухолей животных. Учитывая, что многие противоопухолевые вещества обладают иммуносупрессивным действием, ограничивающим их клиническое применение, представляет интерес оценка влияния металлических наночастиц на активность иммунокомпетентных клеток человека, а также на состояние иммунной системы экспериментальных животных при их введении.

Целью данной работы явилась оценка иммунотропного действия наночастиц (НЧ) биогенных металлов *in vitro* и *in vivo*.

В крови 10 доноров и 10 онкологических больных до и после кратковременной инкубации (30–60 мин) со взвесью НЧ определяли количество мононуклеарных клеток (МНК), экспрессиру-

ющих активационные и апоптотические рецепторы, с помощью проточной цитофлюориметрии; после 24-часового культивирования определяли продукцию цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10) с помощью ИФА. 40 белым беспородным мышам без опухоли и 20 с перевиваемой саркомой 37 внутрибрюшинно вводили взвесь НЧ в суммарных дозах 4–20 мкг/мышь. Через 4–6 дней изучали состояние их центральных и периферических органов иммунной системы (тимуса, костного мозга, селезенки) гистологическими и цитологическими методами. У опухоленосителей в эти сроки развивалась регрессия опухолей под действием вводимых НЧ биогенных металлов, описанная нами ранее.

Результаты светооптической оценки клеток, способных к фагоцитозу (моноцитов и нейтрофилов) показали, что НЧ металлов как проникают внутрь клеток, так и прилипают к их мембране. В лимфоцитах также были обнаружены конгломераты частиц, особенно заметные при использовании НЧ Fe. Инкубация с НЧ не приводит к визуально регистрируемому развитию поврежденных клеток. Не установлено усиления апоптоза МНК по экспрессии annexin V при инкубации с НЧ биогенных металлов. Отмечена стимуляция реакций «окислительного взрыва» в нейтрофилах под действием НЧ Fe, но не НЧ Zn, а также некоторое усиление экспрессии рецептора главного комплекса гистосовместимости (HLA-DR) на моноцитах при инкубации с НЧ Fe по сравнению как с контролем, так и с действием НЧ Zn. Экспрессия лимфоцитарных рецепторов после инкубации с НЧ не имела статистически значимых отличий от контрольных проб. Установлено дозо-зависимое влияние инкубации с НЧ на продукцию некоторых цитокинов. Так, при инкубации МНК с НЧ Zn наблюдалась статистически значимая стимуляция продукции IL-1 $\alpha$  в пробах с исходно низким уровнем этого цитокина (с  $39,6 \pm 13,7$  до  $193 \pm 61,4$  пг/мл, т.е. в 4,8 раз;  $p < 0,05$ ) и отсутствие влияния при его высокой продукции. Напротив, после инкубации МНК с НЧ Fe произошло снижение исходно высокого уровня продукции TNF- $\alpha$  (с  $187,5 \pm 34,8$  до  $41,5 \pm 27,7$  пг/мл;  $p < 0,05$ ), а на пробы с его низкой продукцией влияния не отмечено. При экспериментальном исследовании было обнаружено стимулирующее действие НЧ биогенных металлов, особенно Zn, на тимус мышей как не имеющих опухолей, так и опухоленосителей, у которых после курсового введения НЧ произошла полная или частичная регрессия С 37. Последнее особенно важно, так как введение исследуемых НЧ обеспечивает сохранность структуры и, судя по всему, функции тимуса при введении экспериментальным животным, что дает возможность использовать их для индукции антипролиферативного действия без повреждения Т-клеточного звена иммунной системы. Введение цитостатиков даже при индукции регрессии опухоли вызывает выраженное нарушение морфо-функционального состояния тимуса и костного мозга. При исследовании процессов гемопоэза показано, что у мышей, получавших НЧ Cu, усилено созревание нейтрофилов и замедлено – лимфоцитов (или нарушен их выход из костного мозга в кровь), т.к. повышение содержания клеток лимфоидного ряда в костном мозге этих животных сопровождается снижением их уровня в периферической крови. Подобные изменения отсутствуют при введении НЧ Zn и НЧ Fe, у которых отмечена стимуляция эритроидного ростка, а содержание лимфоидных и большинства миелоидных элементов сохраняется на уровне интактных животных. Снижение уровня плазматических клеток у мышей, получавших НЧ Cu и НЧ Fe, косвенно говорит о возможном угнетении продукции иммуноглобулинов. Массивных и выраженных дистрофических изменений у мышей, получавших НЧ всех исследованных металлов, не отмечено.

Итак, введение мышам НЧ биогенных металлов не вызывает грубых изменений структурно-функциональной картины органов иммунной системы и гемопоэза и, по-видимому, обеспечивает сохранность их функций. Изменения некоторых характеристик иммунокомпетентных клеток при инкубации *in vitro* с НЧ также не свидетельствуют об их угнетении; на ряд исследованных параметров влияния изученных НЧ не выявлено.

*Работа частично поддержана проектом РФФ № 14–35–00051.*

# ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ ПО РАСШИРЕННОМУ ПРОТОКОЛУ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА С ЦИТОХАЛАЗИНОМ В

*Ф.И. Ингель*

*Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина  
на Минздрава РФ, 119121, Российская Федерация, г. Москва, ул. Погодинская, 10  
E-mail: fainaingel@mail.ru*

Наноматериалы находят все более широкое применение в технике и технологии, в то же время постоянно увеличивается количество публикаций, демонстрирующих высокую токсичность и генотоксическую активность наночастиц [1]. Микроядерный тест с цитохалазином В и использованием стандартного протокола цитогенетического анализа [2] не только позволяет выявить генотоксическую активность, в частности, наночастиц и наноматериалов, но даже понять некоторые особенности механизма их генотоксического действия. В частности, использование FISH-окраски с панцентромерными ДНК-зондами позволяет понять, находятся ли в микроядре целые хромосомы (анеугенный эффект) или ацентрические фрагменты хромосом (кластогенный эффект). Однако такое понимание представляется недостаточным.

С учетом большинства имеющихся публикаций по микроядерному тесту с цитохалазином В мы разработали расширенный протокол, который учитывает максимум эффектов нестабильности генома и отличается от стандартного более широким охватом событий, связанных с пролиферацией клеток [3, 4]. В основе этого протокола лежит понимание того, что введение цитохалазина запускает счетчик числа делений клетки: двуядерные клетки за время экспозиции к цитохалазину разделились 1 раз, 4-ядерные, – дважды, а клетки с большим (но четным) числом ядер – 3 и более раз. Нечетное число ядер в клетке указывает на анеуплоидию. В каждой культуре всегда обнаруживается набор клеточных фракций с различным числом ядер, что позволяет оценить спектр клеточных популяций. При этом следует понимать, что число ядер в клетке отражает скорость ее пролиферации в культуре [5].

Существенно, что анализ только 2-ядерных клеток, как это рекомендует стандартный протокол, приводит к недоучету имеющихся генетических повреждений, поскольку целый ряд воздействий [6, 7] (мутагены, полихлорированные бифенилы, аэроионы, экспрессия онкогена *c-myc*) при экспозиции доноров либо *in vitro* ускоряют пролиферацию клеток в культуре. В подобных случаях двуядерная клетка с повреждением за время контакта с цитохалазином, как правило, успевает разделиться еще раз и стать 4-ядерной. Повреждения в ней сохраняются, но в анализ по стандартному протоколу эта клетка уже не входит. Таким образом, использование расширенного протокола позволяет более точно ответить на вопрос о реальном количестве генетических повреждений – спонтанных и индуцированных. Кроме того, расширенный протокол позволяет учитывать практически, весь спектр эффектов, связанных с нестабильностью генома (генетические повреждения, анеуплоидию, изменения пролиферативной и митотической активности и апоптоз) в одной постановке и на одном цитогенетическом препарате.

В докладе представлено обобщение результатов многопараметрового сравнительного анализа показателей нестабильности генома человека под действием диапазона доз нано- и микрочастиц оксидов титана, алюминия и серебра с использованием расширенного протокола микроядерного теста. Общим для всех изученных наночастиц (в отличие от тех же веществ, но с частицами микроразмера) являлось дозозависимое повышение *суммарной* частоты клеток с микроядрами и нуклеоплазменными мостами и ускорение пролиферации клеток в культуре, что позволяет говорить уже не только о кластогенной, но о канцерогенной активности наночастиц.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Schröder K., Pohlenz-Michel Ch., Simetska N., Voss J-U., Escher S., Mangelsdorf I. Carcinogenicity and Mutagenicity of Nanoparticles – Assessment of Current Knowledge as Basis for Regulation. URL: [www.umweltbundesamt.de](http://www.umweltbundesamt.de)
2. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nature Publishing Group. 2007. URL: <http://www.nature.com/natureprotocols>
3. Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть 1. Пролиферация клеток // Экологическая генетика. 2006. Т. IV. Вып. 3. С. 7–19.
4. Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть 2. Факторы среды и индивидуальные особенности в системе оценки нестабильности генома человека // Экологическая генетика. 2006. Т. IV. Вып. 4. С. 39–54.
5. Rosefort C., Fauth E., Zankl H. Micronuclei induced by aneugens and clastogens in mononucleate and binucleate cells using the cytokinesis block assay // *Mutagenesis*. 2004. Vol. 19(4). P. 277–2784
6. Stavropoulou V., Xie J., Henriksson M., Tomkinson B., Imreh S., Masucci M.G. Mitotic Infidelity and Centrosome Duplication Errors in Cells Overexpressing Tripeptidyl-Peptidase II // *Cancer Research*. 2005. Vol. 65. P. 1361–1368.
7. Родиченко Е.П., Яглова Н.В., Яглов В.В., Обернихин С.С. Влияние хронического воздействия низких доз ДДТ на морфофункциональное состояние тимуса крыс // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2013. № 2. С. 36–42.

---

## ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОРАЗМЕРНЫХ КАТАЛИЗАТОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ

*А.М. Кацев, С.Л. Сафронюк, Т.В. Крамарь*

*Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295006, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7  
E-mail: [katsev@mail.ru](mailto:katsev@mail.ru)*

Наноразмерные катализаторы на основе металлов и их оксидов, обладая высокой эффективностью, находят широкое применение в различных отраслях промышленности, а также для обезвреживания токсических отходов и отравляющих веществ. Учитывая, что объемы синтезируемых в мире новых наноматериалов постоянно возрастают, представляется крайне важным контролировать их потенциальный риск, в отношении как человека, так и окружающей среды. Одним из методов быстрой экотоксикологической оценки является биотестирование на светящихся бактериях. В качестве тест-объектов используются как природные люминесцентные микроорганизмы, так и генно-инженерные штаммы. Методы на основе бактериальной биолюминесценции получили широкое распространение во всем мире и вошли в международный стандарт ISO.

Целью данной работы было изучение биотоксических (экотоксических) свойств новых потенциальных нанокатализаторов окисления, на основе бентонитов, оксидов цинка, титана и алюминия с использованием природных люминесцентных бактерий, выделенных из Черного и Азовского морей.

В работе были использованы наноматериалы, синтезированные в Университете Восточного Пьемонта, Италия (University of Eastern Piedmont “A. Avogadro”, (NanoSISTEMI), Alessandria, Italy). В их число вошли наноразмерные оксиды и их модификации со слоистой и мезопористой структурой: ZnO (образцы № 1 и 2), TiO<sub>2</sub> (№ 3–4),  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (№ 5), а также композитные материалы на основе бентонита (№ 6 Bentonite), модифицированного железом (III) (№ 7 Fe-Bentonite) и пероксидными соединениями: № 8 Fe-Bentonite-NaBO<sub>3</sub>; № 9 Fe-Bentonite-acetylperoxoborate (APB);



№ 10 Fe-Bentonite-urea-hydrogen peroxide (UHP). Биотестирование проводили на трех штаммах светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1, *Vibrio fisheri* F1, *Vibrio harveyi* Ms3, выделенных авторами из Азовского (первый) и Черного морей (второй и третий). Биотоксичность оценивали по ингибированию бактериальной биолюминесценции в среде оптимальной для свечения тест-объектов (3 % NaCl, pH=7,0, питательная среда) в режимах определения острого (10–30 мин), хронического (18-часовой тест) действий, а также при прямом контакте наночастиц с бактериями на плотной питательной среде.

Во всех экспериментах образцы ZnO (№ 1–2), а также Fe-bentonite-NaBO<sub>3</sub> (№ 8) оказывали ингибирующее действие на светящиеся бактерии, проявляя острую биотоксичность. Образец № 9 Fe-bentonite-APB также ингибировал бактериальную биолюминесценцию, но в меньшей степени. Значения эффективных концентраций снижающих бактериальное свечение на 50 % (ЭК<sub>50</sub>) в тесте на острое действие составили 0,02 мг/мл для ZnO и Fe-bentonite-NaBO<sub>3</sub> и 0,13 мг/мл для Fe-bentonite-APB при использовании *V. fisheri* F1 в качестве тест-объекта.

В тесте на хроническую биотоксичность образцы № 1–2 и 8 ингибировали бактериальное свечение, аналогично результатам теста на острое действие. Композитные нанокатализаторы, содержащие в своей структуре пероксидные окислители (№ 9–10) также обладали токсическими свойствами, подавляя биолюминесценцию при меньших концентрациях, чем сам бентонит и его модифицированные железом производные.

Полученные результаты сравнивали с токсичностью бихромата калия, широко распространенного окислителя, который обладает и острым и хроническим действием, а также мутагенными и канцерогенными свойствами. Его использование в качестве положительного контроля при биотестировании, которое показало, что исследуемые наноматериалы характеризуются меньшей биотоксичностью (более высокими значениями ЭК<sub>50</sub>), чем бихромат калия. Исключением явились образцы ZnO and Fe-bentonite-NaBO<sub>3</sub>, токсичность которых была выше, чем K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

Дополнительные исследования биотоксичности были проведены с использованием контактного метода диффузии в агаре. При этом оценивалось прямое действие наноматериалов на рост и биолюминесценцию светящихся бактерий на плотной питательной среде. Токсичность образцов устанавливали по размеру темных зон задержки роста и ингибирования биолюминесценции. Результаты этого теста подтвердили токсические свойства оксидов цинка, Fe-bentonites-NaBO<sub>3</sub> и Fe-bentonite-APB, а также выявили возможную токсичность образца Fe-Bentonite (№ 7), не содержащего пероксидный компонент. Образец № 10 Fe-bentonite-UHP не образовывал зон задержки роста и, таким образом, его токсичность не была подтверждена.

Полученные результаты свидетельствуют о варьировании биотоксических свойств нанокатализаторов, что может быть связано с нестабильностью и быстрой инактивацией активных форм кислорода, образующихся при контакте наночастиц с водной средой. Дополнительным фактором может быть гетерогенный характер реакционной смеси, включающей в себя водный раствор, твердые наночастицы, их растворимые фракции и тест-бактерии. Все это приводит к необходимости поиска новых подходов к экотоксикологическим исследованиям наноразмерных материалов.

---

## **ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ФРАКЦИИ НАНОРАЗМЕРНЫХ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ В ПРОЯВЛЕНИИ ИХ БИТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ**

*Т.В. Крамарь, С.Л. Сафронюк, А.М. Кацев*

*Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295006, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7  
E-mail: kramarva@gmail.com*

Уникальные характеристики наносистем в настоящее время способствуют внедрению их во все сферы человеческой деятельности. Учитывая многочисленные преимущества в использовании

наноразмерных материалов, приоритетным остается вопрос их биологической и химической безопасности. Действие наночастиц на живые организмы связывают с их возможностью проникать внутрь клеток, образовывать водорастворимые фракции, а также катализировать окислительные процессы с генерацией активных форм кислорода.

Цель работы: изучить биологическое действие наноразмерных оксидов металлов биолюминесцентными аналитическими технологиями и оценить роль водорастворимых фракций в проявлении их биотоксических свойств.

Исследовали наночастицы оксидов алюминия, цинка (3 образца, один со слоистым строением), титана (наноразмерный и мезопористый), вольфрама и ниобия, синтезированные в департаменте науки и технологий Университета Восточного Пьемонта, Италия (Università del Piemonte Orientale «Amedeo Avogadro»). Их биологическую активность оценивали по острому и хроническому действию на биолюминесценцию бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1, *Aliivibrio fischeri* F1, *Vibrio harvey* Ms2, выделенных из Черного и Азовского морей и входящих в состав коллекции светящихся микроорганизмов Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского». Изменение интенсивности биолюминесценции регистрировали биохемилюминометром БХЛ – 06 (Россия). Электропроводность водных суспензий наночастиц (0,05–0,5 мг/мл) изучали кондуктометрическим методом с помощью кондуктометра DISTWP (HANN A instruments, USA).

Результаты анализа показали различные типы биологического действия наноматериалов на бактериальные тест-системы. Наноразмерные оксиды титана ( $\text{TiO}_2$ ), алюминия ( $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ ), вольфрама ( $\text{WO}_4$ ) и ниобия ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) не оказывали значительного действия на бактериальную биолюминесценцию в исследуемом диапазоне концентраций. Кондуктометрическая оценка водных растворов этих оксидов показала низкие значения электропроводности в диапазоне от 0 до 3 мСм/см, близкие к показателям дистиллированной воды.

Наночастицы оксидов цинка ингибировали свечение бактерий, проявляя острую и хроническую биотоксичность. Их эффективные концентрации, снижающие биолюминесценцию на 50 % ( $\text{ЭК}_{50}$ ), составили 0,04 мг/мл, 0,1 мг/мл и 0,275 мг/мл (для наноксида со слоистой структурой). Кондуктометрические исследования оксидов цинка в водных средах показали значения электропроводности 10, 49 и 10 мСм/см, соответственно, что значительно выше, чем для остальных изучаемых наноматериалов. Между интенсивностью биолюминесценции бактерий в присутствии наночастиц  $\text{ZnO}$  и электропроводностью выявлена высокая обратная корреляция. Значения коэффициентов корреляции для разных наноразмерных образцов оксидов цинка варьировали от –0,72 до –0,97.

Полученные данные свидетельствуют о значительной роли водорастворимых фракций наноразмерных оксидов металлов в проявлении их биотоксических свойств.

---

## ДЕТОКСИКАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА МОДИФИЦИРОВАННОГО АКТИВНОГО ДИОКСИДА КРЕМНИЯ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС ПРИ ОТРАВЛЕНИИ СУЛЕМОЙ

*А.Ф. Кузнецов*

*Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 196084, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5  
E-mail: kafpit@mail.ru*

Целью наших исследований являлось изучение влияния энтеросорбентов на рост и развитие лабораторных крыс при отравлении сулемой. Объектом исследования служил новый энтеросорбент МАДК-вита (аморфный диоксид кремния, модифицированный БАДом). Изучали абсолютные и относительные среднесуточные приросты живой массы тела, проводили массометрию внутренних органов. Для опыта сформировали 3 группы не линейных крыс. Первой опытной группе к основному рациону добавляли сулему – 2,9 г/400 г корма, второй опытной группе

добавляли сулему в том же количестве, а также МАДК-вита, контрольной группе скармливали только основной рацион.

Опыт длился в течение 13 дней. Животные содержались в просторном, хорошо освещенном, проветриваемом виварии в специальных чистых клетках. На протяжении всего опыта все крысы в контрольной группе были клинически здоровыми, а в опытных группах, где в рацион была введена сулема, у крыс наблюдали признаки отравления, такие как: угнетенное поведение, неохотная поедаемость корма, обильное питье и т.п. Взвешивание производили каждые три дня. Исходя из результатов взвешиваний можно отметить, что наивысшие абсолютный и относительный среднесуточный приросты, а также интенсивность приростов были в контрольной группе, тогда как в первой опытной группе, где скармливали основной рацион и сулему, эти показатели имели отрицательные значения. Во второй опытной группе показатели роста меньше, чем в контрольной группе, но не имеют отрицательных значений, что обусловлено введением в рацион МАДК-вита.

Клинико-гематологический анализ показал, что в группе № 1, где в корм добавляли сулему, повысились показатели: лейкоцитов, эритроцитов и количество гемоглобина в крови, в то время как понизились – содержание гемоглобина в эритроцитах и количество тромбоцитов; а в группе № 2, где помимо сулемы добавляли МАДК, отмечается повышение тромбоцитов и содержания гемоглобина в эритроцитах.

В лейкограмме отмечено повышение в обеих опытных группах сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов. В биохимическом анализе в группе № 1 отмечено повышение: мочевины и билирубина, а также снижение: аланинтрансаминазы, аспартаттрансаминазы и холестерина; в группе № 2 отмечено повышение: аспартаттрансаминазы и холестерина и снижение мочевины и билирубина.

В заключении можно сделать вывод, что при добавлении сорбента АДК с кормом повышается количество лейкоцитов, гемоглобина и снижается количество тромбоцитов в сравнении с контрольной группой. А при добавлении МАДК-вита отмечается снижение количества лейкоцитов, тромбоцитов, но повышается содержание эритроцитов и гемоглобина. Важно отметить, что энтеросорбент МАДК-вита оказывает сорбционные свойства при отравлениях сулемой. По результатам анализов крови видно, что в опытной группе, где добавляли с кормом сулему и МАДК-вита показатели крови были значительно лучше, по сравнению с опытной группой, где использовали только основной рацион и сулему.

В конце опыта животные были убиты, и провели массометрия тушек и их внутренних органов. На основании полученных данных можно отметить, что в контрольной группе масса внутренних органов была больше, чем в опытных, однако в первой опытной группе масса легких и почек превышает показатели контрольной группы, что по всей видимости является признаком отравления ртутью. Масса внутренних органов у второй опытной группы близка к контрольной, но вес легких и почек меньше, чем в первой опытной.

Анализируя полученные результаты можно сделать вывод, что энтеросорбент МАДК-вита обладает выраженными детоксикационными свойствами при отравлении сулемой.

---

## **ВЛИЯНИЕ МИКРОНИЗИРОВАННЫХ ДОБАВОК – СОРБЕНТОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ИХ В РАЦИОН ЦЫПЛЯТ**

*А.Ф. Кузнецов<sup>1</sup>, С.В. Половцев<sup>2</sup>, А.А. Краснов<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 196084, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5*

*<sup>2</sup>Российский научный центр «Прикладная химия», 193232, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Крыленко, 26А*

*E-mail: kafpit@mail.ru; aak2aab@gmail.com*

В работе представлены некоторые результаты зоогигиенической оценки добавления в основной рацион цыплят бройлеров двух биологических (кормовых) добавок: аморфный диоксид

кремния (АДК) и АДК модифицированный виролитом (МАДК-ви́ро). Режим введения АДК и МАДК-ви́ро – прерывистый: четверо суток – введения добавок, четверо суток – перерыв и т.д. В качестве сорбентов были использованы: аморфный диоксид кремния (АДК) с размером частиц 0,1–100 мкм, с содержанием оксида кремния не менее 99,5 % (производство АО «Химинжинеринг»); АДК с добавлением бактерицида и вирулицида «Виролит» – (МАДК-ви́ро). Исследования проведены в двух сериях опытов на цыплятах. У них определяли рост и развитие, клинические и биохимические показатели крови, массометрию внутренних органов.

В первой серии опытов изучали влияние АДК и его модификации на цыплятах бройлерах кросса РОС 308 в возрасте 21-х суток. Были сформированы три группы цыплят. Группе № 1 добавляли к основному рациону МАДК-ви́ро (АДК + ви́ролит, по нашей прописи). Группе № 2 добавляли к основному рациону АДК, группа № 3 была контрольной, которой скармливали только основной рацион. Эти препараты добавляли к основному рациону в пропорции 1 г препарата на 1 кг корма. В кормлении цыплят использовали комбикорм, изготовленный по рецепту № ПК 5–1Г\_1570. Возраст цыплят на начало эксперимента – 21 сутки. АДК и МАДК-ви́ро вводили в рацион прерывисто: четверо суток – введения добавок, четверо суток – перерыв и т.д. В возрасте 34-х суток цыплята были убиты.

Анализ показателей роста и развития цыплят показывает, что лучшие относительные приросты массы тела были в опытной группе № 2, где скармливали АДК (51,8 %), несколько ниже в опытной группе № 1, где скармливали МАДК-ви́ро (48,8 %), а еще ниже в контрольной группе (35,8 %). Такое же распределение характерно и по показателям интенсивности прироста: опытная группа № 2 (41,21 %), опытная группа № 1 (39,4 %) и контрольная группа – (36,6 %).

Биохимические исследования крови показывали, что наибольшее количество общего белка было в опытной группе № 2, в контрольной – ниже, а ниже всего в опытной группе № 1. Наибольшее содержание мочевины отмечено группе № 2, ниже в группе № 1, а в контрольной группе № 3 еще ниже. Аланинаминотрансфераза (АЛТ) как показатель интенсивности обменного процесса был самый высокий в опытной группе № 2, ниже в контрольной, еще ниже в опытной группе № 1 – 10,80. Наиболее высокий показатель аспартатаминотрансфераза (АСТ) отмечен у цыплят контрольной группы, ниже – в группе № 2 и еще ниже в опытной группе № 1. Показатель холестерина (моль/л) в опытной группе № 3 составил 4,57, несколько ниже в контрольной – 4,41, еще ниже в опытной группе № 1 – 4,08 и опытной группе № 2 – 3,90.

Во второй серии опытов исследования проводили на цыплятах бройлерах кросса Hubbard, в возрастной период 1–45 суток. Были сформированы три группы: группе № 1 добавляли к основному рациону МАДК-ви́ро, группе № 2 добавляли к основному рациону АДК, а группа № 3 была контрольной, которой скармливали только основной рацион. Схема введения препаратов и доза введения были аналогичными, как и во второй серии исследований. В возрасте 45 суток цыплята-бройлеры были убиты. Данные роста и развития цыплят-бройлеров показали, что максимальная живая масса цыплят при завершении опыта была в опытной группе № 2 (2938,50 г), затем идет контрольная группа (2813,00 г), и опытная группа № 1 (2767,67 г). Аналогичное распределение мест отмечено и по показателям абсолютных среднесуточных приростов живой массы цыплят, это – АДК (65,86 г), контрольная группа (63,00 г), МАДК-ви́ро (61,94 г). Относительный прирост массы тела, как и интенсивность прироста массы тела была наиболее высокой в группе № 2, ниже в контрольной группе и еще ниже в опытной группе № 1.

Цифровые данные по массометрии внутренних органов цыплят показали, что масса тушки (после обескровливания и нутровки) в опытной группе № 2 составила 86,39 %, в опытной группе № 1 – 88,20 %, а в контроле – 86,01 %.

Масса белого мяса (грудная мышца + часть спинных мышц) – в опытной группе № 2 составила 34,61 % от живой массы цыплят; по опытной группе № 1 эти показатели, соответственно, были: 34,55 %; по контрольной группе: 34,41 %.

Выход массы красного мяса (бедро + голень) по группе № 2 был: 30,69 %, а по опытной группе № 1 29,87 %, по контрольной группе 28,51 %.

Проведенные исследования показали, что чистый АДК и предлагаемые модификации аморфного активного диоксида кремния с виролитом (МАДК-ви́ро), являются определенными биологическими активными добавками. Введение в основной рацион АДК оказывало более эффективное влияние на организм цыплят, чем его модификация – МАДК-ви́ро. Использование АДК способствовало увеличению среднесуточного прироста массы тела цыплят-бройлеров кросса РОС-308 на 5,8 г или на 7,7 % по сравнению с контролем. У этой группы цыплят отмечали и достаточно высокие показатели общего белка, мочевины, АЛТ.

Проведенные исследования на цыплятах-бройлерах кросса Hubbard, возрастной период составил 45 суток, показали, что более высокие показатели были в группе цыплят, где к основному рациону периодически добавляли АДК из расчета 1 г на 1 кг комбикорма. Так, средняя масса цыпленка к концу опытного периода в этой группе составляла  $2938,50 \pm 132,2$ , а в контроле  $2813,00 \pm 186,0$ , т.е. превышение составило 4,46 %. Среднесуточные приросты живой массы цыплят, которым к основному рациону добавляли АДК также были выше на 4,5 %. Эти данные подтверждены такими интегральными показателями, как самый высокий убойный выход белого мяса – 34,61 % (в контроле 34,41 %); выход красного мяса – 30,69 % (в контроле 28,51 %)

Технология включения аморфного диоксида кремния (АДК) в рационы для бройлеров кроссов РОС-308 и Hubbard позволяют получать дополнительную животноводческую продукцию до 4–5 %. Предложенный препарат рекомендуем применять для обеспечения высокой продуктивности растущего молодняка сельскохозяйственной птицы.

---

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

*А.Ф. Кузнецов<sup>1</sup>, С.В. Половцев<sup>2</sup>, А.А. Краснов<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 196084, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5*

<sup>2</sup>*Российский научный центр «Прикладная химия», 193232, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Крыленко, 26А*

*E-mail: kafpit@mail.ru; aak2aab@gmail.com*

Цель настоящей работы заключается в изучении влияния некоторых сорбентов на организм лабораторных крыс. В качестве сорбентов были использованы: аморфный диоксид кремния (АДК) с размером частиц 0,1–100 мкм, с содержанием  $\text{SiO}_2$  не менее 99,5 % (производство АО «Химинжинеринг»); АДК с добавлением антистрессового препарата Витагмал (производство ООО «Биофармос»; АДК с добавлением бактерицида и вирулицида «Виролит» (производство НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. Л. Пастера». В качестве основного рациона (ОР) использовали корм для домашних грызунов промышленного производства.

Исследования проведены в трех сериях опытов на лабораторных крысах. У животных определяли рост и развитие, клинические и биохимические показатели крови, массометрию внутренних органов у убитых крыс.

В **первой серии опытов** было изучено влияние АДК и АДК с витагмалом на рост и развитие лабораторных крыс. Сформировали три группы молодняка лабораторных (не линейных) крыс, по пять животных в группе, массой тела  $59,8 \pm 4,7$  г. Продолжительность опыта – 13 суток. 1-й опытной группе в основной рацион (ОР) добавляли только АДК из расчета 3,75 г на 1 кг корма, а 2-й опытной группе к ОР добавляли АДК с витагмалом; 3-я группа крыс была контрольной и она получала только ОР. Кормовую смесь всем трем группам задавали 1 раз в сутки. Условия содержания, ухода и поения для всех трех групп крыс были одинаковыми и соответствовали зоогигиеническим нормативам.

В течение всего опытного периода все животные были клинически здоровы. Добавка АДК в испытываемой дозировке обеспечила среднесуточный прирост массы тела крыс до 3,70 г, что на 28,47 % больше, чем в контрольной группе; а добавка АДК с витагмалом, соответственно, – 3,48 г, что на 20,8 % больше, чем в контрольной группе.

У крыс во 2-й опытной группе, где использовали АДК с витагмалом, были выше следующие показатели крови: гемоглобин, гематокрит, тромбоциты, их корпускулярные объемы, среднее содержание гемоглобина в эритроците, количество лимфоцитов, и более низкие показатели: содержания сегментоядерных нейтрофилов, а также мочевины в крови, по сравнению с 1-й опытной группой.

Массометрия внутренних органов у убитых крыс показала, что добавка АДК в рацион крыс 1-й опытной группы оказывало существенное влияние на массу сердца, легких, кишок, печени и селезенки, и добавка АДК с витагмалом достоверно повлияла на массу желудка, кишок и почек.

Во **второй серии опытов** были изучены различные дозы введения диоксида кремния с виролитом на молодых лабораторных крысах (средняя масса тела – 35,9±3,2г). Продолжительность опыта 14 суток. 1-й опытной группе в ОР вводили АДК с виролитом в дозе 0,5 г на 1 кг корма; 2-й опытной группе – 1,0 г на 1 кг корма; 3-й – 2,0 г на 1 кг корма; 4-й 3,0 г на 1 кг корма; 5-я группа была контрольной, которой вводили только ОР. Условия содержания, ухода и кормления были одинаковыми для всех групп крыс.

Результаты исследования показали, что наивысшие среднесуточные приросты массы тела были у крыс в 4-й опытной группе и они составили: 2,54±0,3 г, в 3-й опытной группе – 2,52±0,3 г, а в 1-й и 2-й опытных группах, соответственно: 2,28±0,3 и 2,25±0,3 г, а в контрольной группе – 2,27±0,2

В 3-й и 4-й опытных группах отмечены более высокие показатели количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, холестерина, билирубина по сравнению с контрольной группой и 1-й и 2-й опытными группами. Количество сегментоядерных нейтрофилов в опытных группах 1, 2, 3 и 4 было ниже, чем в контрольной группе, но и количество лимфоцитов и моноцитов наоборот было выше в опытных группах, где добавляли АДК с виролитом, чем в контрольной группе.

Массометрия внутренних органов показала, что масса сердца, печени у убитых крыс была выше в опытных группах 1, 2, 3, 4, чем у контрольной группы. Эти материалы свидетельствуют, о перестройке в организме крыс, что связано с добавлением в ОР крысам АДК с виролитом в разных дозах.

В **третьей серии опытов** была изучена детоксикационная способность АДК с витагмалом при ртутной интоксикации. Интоксикацию у крыс вызывали ртутным препаратом – сулемой в дозе – 37 мг на 1 кг корма. Были сформированы три группы лабораторных (не линейных) крыс, по пять животных в группе. 1-я опытная группа крыс с ОР получала сулему (37 мг/кг корма); 2-я опытная группа крыс с кормом получала сулему (37 мг/кг корма) и АДК с витагмалом (1,6 г / 400 г корма); 3-я группа была контрольной и получала только ОР. Кормовую смесь задавали крысам 1 раз в сутки. Продолжительность опыта – 14 суток.

Материалы этого опыта подтверждают, что добавка сулемы вызывала интоксикацию организма в опытной группе № 1, и живая масса крыс этой группы снижалась с 127,02 г за 13 суток опыта – до 115,28 г. **Среднесуточные не приросты, а отвесы (снижение массы)** по этой группе были минус 1,02 г. Во 2-й опытной группе, где с сулемой добавляли АДК с витагмалом, изменения в массе тела за опытный период были с 106,15 г до 109,31 г (на одну голову) т.е. среднесуточный прирост живой массы составил со знаком плюс 0,13 г/гол. При ртутной интоксикации крыс добавка АДК с витагмалом во 2-й опытной группе положительным образом сказывалась на содержании эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов, лимфоцитов, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и холестерина.

Масса внутренних органов убитых крыс в контрольной, а также в 1-й и 2-й опытных группах были различны. Относительная масса сердца к массе тушки по группам составила, соответственно, 0,48, 0,44, 0,38 %; масса желудка (в %): 1,33; 1,21; 1,30; масса кишок (в %): 10,08; 9,71; 8,31; масса почек (в %): 1,22; 1,52; 1,61; масса печени (в %): 4,75; 4,31; 3,96.

Таким образом, можно сделать вывод, что добавка аморфного диоксида кремния с биологически активными препаратами – витагмалом и виrolитом обеспечивает положительное влияние на рост и развитие организма лабораторных крыс, которая сопровождается увеличением среднесуточных приростов массы тела, массы внутренних органов, морфологическими и биохимическими изменениями показателей крови.

Опыты по изучению детоксикационных свойств аморфного диоксида кремния с витагмалом подтверждают положительный детоксикационный эффект при отравлении крыс сулемой.

---

## МОДИФИКАЦИЯ ГЕМАТИНОМ И ФОТОДИТАЗИНОМ МИКРОКАПСУЛ НА ОСНОВЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ЧАСТИЦ КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ И ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ СЛОЕВ

***Б.В. Набатов<sup>1</sup>, В.Ю. Татарников<sup>2</sup>, М.А. Ракова<sup>2</sup>, И.В. Марченко<sup>1,3</sup>,  
М.А. Ванцял<sup>3</sup>, Т.В. Букреева<sup>1,3</sup>***

<sup>1</sup>*Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова Российской академии наук, 119333, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр., 59*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, 1*

<sup>3</sup>*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1*

*E-mail: bnatobov@crys.ras.ru; templerock@mail.ru; rakova-margarita@mail.ru; iramarchenko85@mail.ru; mikhvan@yahoo.com; bukreeva@crys.ras.ru*

Полиэлектролитные микрокапсулы, получаемые последовательной адсорбцией противоположно заряженных полиэлектролитов на коллоидные частицы, перспективны в качестве средств доставки лекарств. Модификация таких капсул молекулами органических флуоресцентных красителей может применяться для визуализации объектов, для создания сенсорных и каталитических систем, для дистанционного вскрытия оболочек под действием лазерного излучения. Отдельный интерес представляет включение в состав капсул порфириновых красителей, так как это позволит создавать новые системы для фотосенсибилизации раковых опухолей, использовать капсулы для регуляции окислительно-восстановительных процессов организма и т.д.

В качестве ядер для создания полиэлектролитных капсул удобно использовать карбонат кальция в модификации ватерит, так как он способен образовывать достаточно монодисперсные сферические микрочастицы, обладающие высокой пористостью. Разработана методика получения на таких ядрах капсул из полиаллиламина и полистиролсульфоната с включением гематина – производного гема. Измерения дзета-потенциала поверхности капсул показали формирование слоя красителя. Методами конфокальной флуоресцентной лазерной сканирующей микроскопии, спектrophотометрии и флуориметрии доказано включение гематина в состав оболочки капсул. В случае фотодитазина краситель образует оболочку на поверхности ядер, которая препятствует перекристаллизации карбоната кальция и обеспечивает стабильность системы. Интенсивная флуоресценция частиц наблюдается по прошествии длительного времени выдержки системы в воде и физиологическом растворе NaCl.

*Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИК РАН при поддержке Минобрнауки (проект RFMEFI62114X0005) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-03-00979a).*

# ИЗМЕНЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА

Е.А. Сизова<sup>1,2</sup>, Е.В. Шейда<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Оренбургский государственный университет, 460018, Российская Федерация, г. Оренбург, пр. Победы, 13

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства, 460000, Российская Федерация, г. Оренбург, ул. 9-го января, 29

E-mail: elena-shejjda@mail.ru

Огромный интерес в ученой среде уделяется развитию нанотехнологий, что подразумевает тесный контакт человека с наночастицами [1]. Однако учеными установлено, что наночастицы, попадая в организм человека, могут стать причиной серьезных заболеваний (нанопатологий), представляющих реальную угрозу здоровью и жизни людей [2]. Известно, что нервная система наиболее чувствительна к различным воздействиям, что может проявляться изменением поведения. Таким образом, целью нашего исследования является изучение влияния наночастиц железа на двигательную активность крыс в системе «Инфракрасный актиметр».

Тестирование проводили на 27 белых нелинейных крысах-самцах массой 110–180 г. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями гуманного обращения с животными [3].

Животные были отобраны со сходным типом нервной системы (средние показатели двигательной активности в открытом поле за 3 минуты наблюдения) и сформированы в три группы: животным первой группы вводили изотонический раствор хлорида натрия; второй – наночастицы железа в дозе 2 мг/кг; третьей – наночастицы железа в дозе 14 мг/кг. Основные данные, полученные в исследованиях, были обработаны с использованием программ «Excel» и «Statistica 6,0». Оценку статистической значимости эффектов оценивали по U-критерию Манна-Уитни.

Спонтанную двигательную активность исследовали в системе «Инфракрасный актиметр в комплекте с системой Панель с отверстиями». Использовали систему инфракрасных лучей для детектирования движений животных, измеряющую количество лучей, разбивающихся на оси X и Y и число погружений животных в отверстия для оценки двигательной активности и стереотипных движений, а также исследования/любопытства (при помощи панели с отверстиями) [4].

В результате проведенных исследований отмечена неоднозначная картина действия наночастиц железа на двигательную активность животных. Двигательная активность во 2-й и 3-й группах достоверно снизилась относительно 1-й группы на 11 и 9 % соответственно, причем ниже активность была зафиксирована в группе с введением наночастиц в дозе 2 мг/кг (табл.).

Таблица

**Влияние наночастиц железа на двигательную активность животных**

№ группы	1-е сут	7-е сут	21-е сут
I	15,33±1,20	19,67±6,12	12,00±6,00
II	13,67±6,84 <sup>с</sup>	15,00±1,73 <sup>с</sup>	8,00±3,51 <sup>с</sup>
III	14,67±2,33 <sup>с</sup>	21,33±5,93	21,33±7,31

**Примечание:** с – достоверность 2-й и 3-й групп с 1-й группой.

На 7-е сутки относительно 1-х суток отмечено достоверное увеличение двигательной активности во всех изучаемых группах. В контрольной 1-й группе ДА относительно 1-х суток увеличилась на 22 %, во 2-й группе ДА достоверно увеличилась на 9 %, а в 3-й группе – на 31 %. Однако относительно контроля у животных 2-й группы двигательная активность снизилась на 23 %, а у животных 3-й группы, напротив, была выше. Самую высокую двигательную активность показали животные 3-й группы, она составила 21,33, что оказалось выше чем ДА 2-й группы на 29,7 % и выше, чем в контрольной 1-й группе на 8 %.



На 21-е сутки после введения наночастиц железа отмечена следующая тенденция в изменении двигательной активности. В контрольной группе уровень ДА к 21-м суткам снизился на 39 %. На фоне снижения двигательной активности животных 2-й группы на 33 % относительно контроля, отмечено увеличение данного показателя в 3-й группе, причем данный показатель остался на неизменном уровне с 7-х суток исследования. В изучаемой 2-й группе ДА относительно 7-х суток исследования снизилась на 47 %.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Рахманин Ю.А. Методические проблемы изучения и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей среды. М.: Мир, 2007. 157 с.
2. Mossman B.T., Borm P.J., Castranova V., Cost D.L., Donaldson K., Kleeberger R. Mechanisms of action of inhaled fibers, particles and nanoparticles in lung and cardiovascular diseases // Particle and Fibre Toxicology. 2007. Vol. 4. № 4.
3. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. М.: ОАО Изд. «Медицина», 2005. 832 с.
4. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1999. С. 119–122.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, Россия, № 14–36–00023.*

---

## ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В ТЕСТЕ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ» ПРИ ВВЕДЕНИИ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА

*Е.В. Шейда, Е.А. Русакова, О.Ю. Сипайлова*

*Экспериментально-биологическая клиника (виварий) Оренбургского государственного университета, 460018, Российская Федерация, г. Оренбург, пр. Победы, 13  
E-mail: elena-shejjda@mail.ru*

В настоящее время особый интерес представляет техногенное загрязнение окружающей среды. В связи с быстро растущими темпами развития коммуникационных технологий (компьютеры, мобильные устройства, телевизоры) увеличился уровень электромагнитных излучений (ЭМИ). Экспериментальные данные как отечественных, так и зарубежных исследователей показывают существенное влияние ЭМИ [1, 2], а также наночастиц на биологические системы, в силу их высокой проникающей способности, что имеет негативное влияние на здоровье человека [3].

Цель работы – изучить влияние ЭМИ при введении наночастиц железа на двигательную, ориентировочно-исследовательскую и эмоциональную активность крыс в тесте «открытое поле».

Биомедицинские исследования проводили на 54 белых нелинейных крысах-самцах массой 110–180 г. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями гуманного обращения с животными [4].

Наночастицы Fe (I) (90 нм.) в дозах 2 и 14 мг/кг вводили внутрибрюшинно (предварительно суспенцированные в воде для инъекций). Контрольной группе животных внутрибрюшинно вводили изотонический раствор хлорида натрия 0,9 % в эквивалентном объеме. Объем инъекций (в мл) – 1 % от массы тела.

Животные были сформированы в три группы: животным первой группы вводили изотонический раствор хлорида натрия; второй наночастицы железа в дозе 2 мг/кг, третьей – наночасти-

цы железа в дозе 14 мг/кг, ежедневно все группы подвергались электромагнитному облучению в течение 15 мин на протяжении всего периода исследования. Эмоциональную, двигательную активность и ориентировочно-исследовательское поведение крыс исследовали в тесте «Открытое поле» [5, 6]. Основные данные, полученные в исследованиях, были обработаны с использованием программ «Excel» и «Statistica 6,0». Оценку статистической значимости эффектов оценивали по U-критерию Манна-Уитни.

Изменение поведенческой активности животных регистрировали после однократного введения указанных доз наночастиц Fe (I) на 1-е, 7-е и 21-е сутки.

На 1-е сутки эксперимента было отмечено, что у животных опытных групп 2 и 3 увеличился уровень ГДА в 1,5 и 1,4 раза, соответственно, относительно контроля. Количество стоек без опоры во второй опытной группе в 3 раза было больше чем в контроле ( $p < 0,001$ ), а суммарное значение ВДА выше на 4 %. Данный показатель в 3-й группе был ниже, чем в контроле на 9 %. В опытных группах возрастал уровень ориентировочной активности, что проявлялось в увеличении числа обследуемых отверстий во 2-й группе на 23 %, в 3-й группе – на 5 % относительно 1-й группы, однако данные были недостоверны. В опытных группах наблюдалось снижение эмоциональной активности.

На 7-е сутки ежедневного воздействия ЭМИ в 1-й группе относительно 1-х суток существенно возросли все тестируемые показатели активности у крыс, что свидетельствует об отсутствии явления привыкания. В опытных группах относительно контрольной уровни суммарных величин ГДА и ВДА снизились на 20 во 2-й и 6,5 % в 3-й группах по числу пересеченных квадратов, и на 58 % во 2-й и 44 % в 3-й группах по числу стоек с опорой и без. Следует отметить, что эмоциональное напряжение во 2-й и 3-й группах увеличилось, что проявилось увеличением суммарного значения показателей груминга на 11 и 20 %, соответственно, относительно контроля, однако при этом отмечено снижение в данных группах уровня тревожности и страха. Ориентировочная активность у животных 3-й группы была ниже, чем в контрольной 6-й группе в 1,9 раз, а в сравнении со второй группой в 2,1. Показатели активности в контрольной группе к 21-м суткам снизились, что возможно, косвенно свидетельствует об адаптации животных к изменяющимся условиям окружающей среды. У крыс 2-й группы отмечено значительное снижение ВДА на 24 % и достоверное снижение ГДА на 55 % ( $p < 0,05$ ). В данной группе отмечено достоверное усиление эмоциональной тревожности: груминга на 80 % ( $p < 0,01$ ), количества актов дефекации на 60 % ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. Ориентировочная активность, наоборот, снизилась на 40 %. Число пересеченных квадратов в 3-й группе относительно контроля возросло на 13 %, количество же стоек с опорой и без, напротив, достоверно снизилось на 61 % ( $p < 0,05$ ). Эмоциональный фактор в данной группе был выше чем в контроле, при этом суммарные показатели груминга достоверно увеличились в 2 раза ( $p < 0,01$ ), а количество актов дефекации на 56 %. Ориентировочная деятельность снизилась на 27 %, однако данные были в пределах ошибки средней арифметической и оказались недостоверными.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Environmental Health Criteria 238 EXTREMELY LOW FREQUENCY FIELDS. World Health Organization, 2007. 519 p.
2. Рыжкина И.С., Киселева Ю.В., Муртазина Л.И., Коновалов А.И. Эффект ультранизких концентраций и электромагнитных полей // Докл. АН. 2012. Т. 446. № 3. С. 303–307.
3. Кремневская С.И., Гельман В.Я., Зацепин Э.П., Королев С.М. Выделение различных компонентов ориентировочной реакции крыс в условиях открытого поля // Физиол. журнал СССР им. И.М. Сеченова. 1991. Т. 77. № 2. С. 124–129.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ОАО Изд. «Медицина», 2005. 832 с.
5. Jackson H.F., Broadhurst P.L. The effects of parachlorophenylalanine and stimulus intensity on open-field test measures in rats // Neuropharmacology. 1982. Vol. 21. P. 1279–1282.
6. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: «Высшая школа», 1999. С. 119–122.

# АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ

**Ю.А. Югай<sup>1,2</sup>, Т.В. Авраменко<sup>2</sup>, Ю.Н. Шкрыль<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, 690950, Российская Федерация, г. Владивосток, о. Русский

<sup>2</sup>Биолого-почвенный институт ДВО РАН, 690022, Российская Федерация, г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостоку, 159/1

E-mail: yuga1992@mail.ru; avrtanya@yandex.ru; yn80@mail.ru

Одним из основных условий, определяющих успех работы с клеточными культурами растений, является отсутствие контаминации на всех этапах культивирования. Для обеспечения стерильности осуществляют ряд мер, в том числе, автоклавирование питательных сред, дезинфекцию используемого растительного материала, стерилизацию рабочих инструментов, а также организацию специальных стерильных зон для пересадок. Однако, несмотря на соблюдение стерильных условий при работе с клеточными культурами, избежать бактериальных заражений не удается, что приводит к гибели культуры.

Наиболее распространенным способом элиминации возникающих бактериальных инфекций при культивировании клеток растений является внесение антибиотиков в питательные среды. Безусловным преимуществом антибиотиков является их широкий спектр действия на различные возбудители бактериальных инфекций. Однако они имеют ряд недостатков, в частности, у многих представителей бактериальной микрофлоры появились механизмы, способные обеспечивать устойчивость к антибиотикам. Более того, длительное применение антибиотиков приводит к возникновению микоплазм в клеточных культурах. К числу отрицательных эффектов антибиотиков можно отнести их цитотоксичность в отношении культивируемых клеток, что негативно сказывается на параметрах прироста биомассы, либо вызывает гибель культуры. Низкая химическая устойчивость антибиотиков к факторам окружающей среды в процессе культивирования также является одним из ограничивающих факторов их использования.

В качестве антибактериальных агентов, лишенных этих недостатков, могут быть использованы наночастицы серебра. Антибактериальный эффект наночастиц обусловлен их способностью к последовательному повреждению клеточной стенки и проникновению внутрь бактерии, что приводит к запуску процессов дефосфорилирования белков, необходимых для обеспечения жизнедеятельности и размножения, в результате чего происходит гибель бактерии.

Нами был изучен антибактериальный эффект наночастиц серебра в суспензионных культурах марены сердцелистной *Rubia cordifolia*, винограда амурского *Vitis amurensis* и женьшеня настоящего *Panax ginseng*, зараженных *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Agrobacterium rhizogines*. Суспензионные культуры инкубировали с бактериями и наночастицами в различных концентрациях в течение 14 суток. Мы показали, что в отсутствие наночастиц бактериальная инфекция вызывала гибель клеток, тогда как в культурах, инкубированных с наночастицами, наблюдали частичную и полную элиминацию бактериальной инфекции.

С целью исследования стабильности антибактериального эффекта клетки суспензионных культур были пересажены на твердые агаризованные среды. В течение пассажа культуры, инкубированные наночастицами серебра, внешне не отличались от контрольных, также отсутствовали признаки контаминации. Более того, было установлено, что наночастицы серебра не влияют на индекс роста биомассы, что свидетельствует об отсутствии цитотоксического эффекта.

Таким образом, нам удалось показать, что наночастицы серебра являются сильным бактерицидным агентом в отношении *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium rhizogines*. Также нами установлено, что обнаруженный антибактериальный эффект характеризуется пролонгированным действием и отсутствием токсичности в отношении клеточных культур.

### ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ПОЛИАЗОЛИДИНАММОНИЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО ГИДРАТ-ИОНАМИ ЙОДА

*М.М. Вакараева<sup>1</sup>, О.В. Нечаева<sup>2</sup>, Е.И. Тихомирова<sup>1</sup>, Беспалова Н.В.<sup>1</sup>, Д.А. Заярский<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина, 410054, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Политехническая, 77*

<sup>2</sup>*Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, 410012, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112*

*E-mail: mvakaraeva@mail.ru*

Проблема лечения гнойных ран сохраняет свою актуальность, особенно в связи с распространением антибиотикорезистентных штаммов возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний. Поэтому поиск высокоэффективных препаратов, сочетающих в себе антимикробные и ранозаживляющие свойства, является востребованным.

Целью исследования явилось изучение ранозаживляющих свойств препаратов, содержащих наноагрегаты флавоноидов, стабилизированные полимером – полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода (ПААГ-М).

ПААГ-М представляет собой биосовместимый полимер, относящийся к IV классу токсичности и характеризующийся высокой антимикробной активностью в отношении условно-патогенных и санитарно-показательных бактерий [1–3]. Эксперименты по формированию осложненных гнойных ран проводили на беспородных белых крысах-самках массой 200±20 г по методике П.И. Толстых [4]. Все экспериментальные животные были разделены на четыре группы: в контрольной группе (I) раны не обрабатывали; у животных II группы раны ежедневно обрабатывали 0,05 % раствором хлоргексидина (по общепринятой методике); в III группе – суспензией нестабилизированных наноагрегатов флавоноидов; у IV группы – препаратом, содержащим наноагрегаты флавоноидов, стабилизированные ПААГ-М. Эффективность лечения оценивали по ликвидации отека окружающих тканей, появления грануляций, начала краевой эпителизации, срокам очищения и полного заживления раны.

Динамика изменения площади экспериментальных полнослойных гнойных ран представлена на рисунке. Через 48 ч после проведения операции площадь ран составляла 225±0,8 мм<sup>2</sup> и характеризовалась выраженной инфильтрацией и гиперемией краев ран и близлежащих тканей. В ранах отмечалось обильное гнойное содержимое, в глубине выявлены участки некроза и налет фибрина. На 3-и сутки после начала лечения поверхность ран у животных всех групп была покрыта фибрином, по периферии наблюдалось появление грануляционной ткани, сокращение площади ран было незначительное, но наиболее выраженное у животных в IV опытной группе. На 5-е сутки наблюдалось полное исчезновение перифокального отека у всех животных опытных групп по сравнению с ранами животных в контрольной группе I: мягкие ткани в зоне ран сохраняли отечность, по периферии ран были выражены некротические изменения. В ранах животных опытных группах отмечена выраженная краевая эпителизация, что приводило к достоверному уменьшению площади ран по сравнению с контрольной группой.

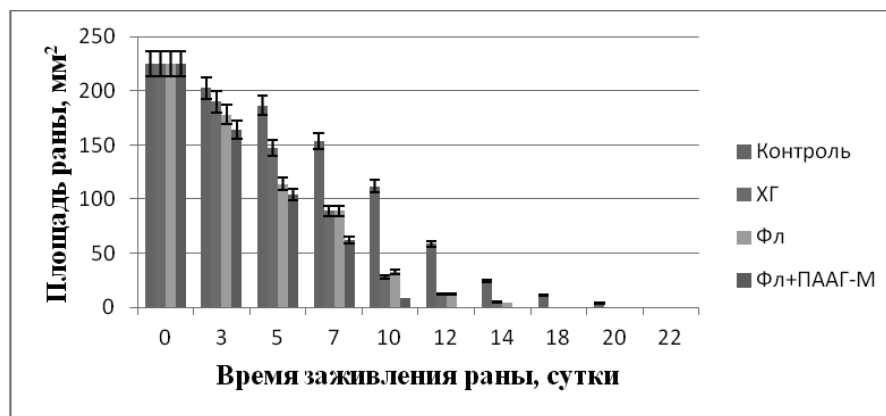


Рис. Динамика изменения площади экспериментальных гнойных ран

К 7-м суткам от начала лечения наблюдалось достоверное сокращение площади экспериментальных ран во всех группах животных. При этом у животных экспериментальных групп происходило очищение раневой поверхности от гнойного содержимого, но края ран оставались гиперемизированы. Полное заживление ран происходило у животных опытной группы IV к 12-м суткам от начала лечения с образованием нежного рубца; у животных II и III опытных групп – на 18-е сутки, а в контрольной группе I – на 22-е сутки с образованием соединительнотканного рубца.

Таким образом, было установлено, что обработка экспериментальных гнойных ран животных препаратом, содержащим нанонагрегаты флавоноидов, стабилизированные ПААГ-М, приводила к сокращению сроков заживления ран в 1,8 раза по сравнению с контролем. Полученные данные позволяют рассматривать данный антимикробный препарат в качестве эффективного ранозаживляющего средства.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Нечаева О.В., Шаповал О. Г., Вакараева М.М., Заярский Д.А., Шуршалова Н.Ф. Оценка антимикробной активности биосовместимого полимерного соединения в отношении возбудителей оппортунистических микозов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2014. № 4. С. 80–83.
2. Нечаева О.В., Тихомирова Е.И., Заярский Д.А. и др. Антимикробная активность полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода // ЖМЭИ. 2015. № 3. С. 88–92.
3. Веденева Н. В. Экоотоксикологическая характеристика полиазолидинаммоний ионогидрата и обоснование его использования в комбинированных системах очистки воды: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пенза, 2015. 23 с.
4. Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А. и др. Имобилизованные формы антисептиков для лечения гнойных ран в эксперименте // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2011. Вып. № 4. С. 25–34.

## ПРИМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ВИНОГРАДА «ЭНОАНТ» В ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

*И.В. Заднипрный, О.С. Третьякова, А.В. Кубышкин, Т.П. Сатаева*

*Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295006, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7*

*E-mail: tanzcool@online.ua*

Одним из природных источников антиоксидантов являются полифенолы винограда. Положительные эффекты полифенолов обусловлены, прежде всего, способностью подавлять процессы

перекисного окисления липидов. Антиоксидантная активность полифенолов в 10–20 раз превосходит таковую у других природных антиоксидантов (например, витамина Е), аскорбиновой кислоты в 15 раз. В последние годы исследования свидетельствуют о перспективности использования препарата «Эноант» – эффективного антиоксиданта и стимулятора репаративно-восстановительных процессов. Пищевой концентрат полифенолов винограда «Эноант» производится по ТУУ 00334830.018–99 из винограда сорта «Каберне-Совиньон». Он не содержит алкоголя, полифенолы винограда представлены в основном антоцианами, лейкоантоцианами, катехинами. В составе концентрата «Эноант» присутствует весь спектр полифенолов винограда, существующих в красном вине. Общее содержание суммарных полифенолов винограда в концентрате составляет 18–20 г/дм<sup>3</sup>, тогда как в красном вине 0,2 г/дм<sup>3</sup>.

Целью настоящей работы явилось изучение терапевтической эффективности применения пищевого концентрата полифенолов винограда «Эноант» в клинических условиях на пациентах-добровольцах, страдающих хроническим гепатитом алкогольного генеза, посредством оценки биохимических показателей сыворотки крови до и после употребления «Эноанта».

В исследовании приняли участие 36 пациентов мужского пола с хроническим гепатитом алкогольного генеза. Исследование проводилось на базе Центра санаторного лечения и медицинской реабилитации (г. Судак). Отбор пациентов для исследования производился по критериям срока санаторно-курортного лечения (не менее 20–21 дня) и согласия пациента. Средний возраст пациентов составил 42,0±7,1 лет, т.е. трудоспособного возраста, что определяет не только медицинскую, но и социальную значимость этой патологии.

Все пациенты были разделены на две группы: I контрольная (17 человек) – без применения «Эноанта», II (19 человек) – в дополнение к индивидуально показанному комплексу лечения пациентам в рацион питания вводили «Эноант». Кроме того, была взята группа из 10 практически здоровых пациентов для проведения контрольных анализов. Дозы «Эноанта» составили в среднем 0,45 мл на кг веса тела больного в сутки, разделенные на три приема. Необходимо отметить, что все больные принимали «Эноант» после еды. При лечении всех больных использовались основные методы лечения в Центре (климатолечение, диетпитание, бальнеотерапия, аппаратная физиотерапия).

Оценка влияния «Эноанта» на биохимические показатели крови осуществлялась по результатам комплексного обследования пациентов перед началом и по окончании курса санаторно-курортного лечения. Результаты биохимических исследований крови подвергали математической обработке с использованием вариационно-статистического метода.

В результате проведенных биохимических исследований сыворотки крови во время клинических исследований у пациентов с алкогольным гепатитом выявлены существенные изменения биохимических показателей крови по сравнению с контрольной группой здоровых лиц.

Применение «Эноанта» у больных II группы в течение всего курса лечения положительно влияло на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы. При проведении анализа показателей этой системы выявлено отсутствие существенной динамики изменения содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида у пациентов I контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Во II эноант-группе снижение содержания диеновых конъюгатов было достоверно по сравнению с I контрольной группой и составляло 3,30±0,16 и 4,98±0,17 мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), соответственно, и малонового диальдегида – 4,80±0,24 и 7,81±0,57 мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), соответственно.

У пациентов I контрольной группы не выявлено существенной динамики в содержании ферментов антиоксидантной системы до и после лечения ( $p < 0,05$ ). А у пациентов II эноант-группы наблюдается достоверное увеличение активности ферментов антиоксидантной системы по сравнению с I группой ( $p < 0,01$ ): супероксиддисмутазы – 1,97±0,41 и 1,68±0,27 усл.ед., соответственно, и каталазы – 17,96±0,86 и 12,32±0,67 усл.ед., соответственно ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, применение «Эноанта» оказывает положительное влияние на течение процессов прооксидантно-антиоксидантной системы: угнетение активности окислительных процессов и активизация антиоксидантных ферментов. Аналогичных положительных изменений показателей этой системы у больных I группы не определялось.

# ВЛИЯНИЕ БИОРЕГУЛЯТОРА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ, НА РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КОСТНОЙ ТКАНИ

***М.С. Краснов<sup>1</sup>, А.И. Шайхалиев<sup>2</sup>, Е.Ю. Рыбакова<sup>3</sup>, В.П. Ямскова<sup>3</sup>, И.А. Ямсков<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-1, В-334, ул. Вавилова, 28*

<sup>2</sup>*Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2*

<sup>3</sup>*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26*

*E-mail: embmsk@mail.ru; astemirsh@yandex.ru; yamskova-vp@yandex.ru*

В данной работе изучали влияние на восстановление костной ткани при введении в искусственно вызванный дефект бедренной кости у крыс композиции Матрибон, представляющей собой синтетический гидроксиапатит (10–30 масс. %), хитозановый гель (70–90 масс. %), содержащий биорегулятор, выделенный из сыворотки крови крупного рогатого скота [1].

В эксперименте изучали течение регенераторных процессов на протяжении 300 дней в костных дефектах под влиянием указанной композиции и в контрольных группах, характер взаимодействия композиции и регенерата в костной ране, воздействие композиции на регенераторный процесс в костной ране. Восстановление и репарацию костной ткани изучали с помощью световой и сканирующей электронной микроскопии.

Показано, что композиция обеспечивает повышенную способность стимулировать репаративные процессы костеобразования с восстановлением морфологически нормального костного матрикса, при этом отмечалось восстановление плотной костной ткани, формирование костного мозга, а также остеонов на более ранних сроках, в отличие от контрольных групп, где в основном формируется губчатая кость.

Из полученных данных можно сделать вывод, что уже на 14-е сутки эксперимента наблюдались признаки различной степени выраженности костеобразовательной активности. В сроки от 30 до 90 суток происходило замещение костных дефектов новообразованной костной тканью. При этом проявляла себя способность к остеоинтеграции, которая особенно ярко проявлялась на поздних сроках в опытной группе, когда наблюдалось замуровывание фрагментов подсаженного материала в новообразованное костное вещество. Особо следует указать на довольно раннее появление признаков репаративного остеогенеза, что свидетельствует о довольно высокой остеопотентности композиции, содержащей сывороточный биорегулятор. Проведенное исследование выявляет значительную роль сывороточного биорегулятора в процессах остеоиндукции и остеокондукции, т.е. в процессе ранозаживления кости. Именно при применении композиций Матрибон отмечалась активная репарация кости, выражающаяся в восстановлении плотной костной ткани, формировании костного мозга, восстановлении остеонов на более ранних сроках, в отличие от контрольных групп, где в основном формируется губчатая кость.

Данные сканирующей электронной микроскопии подтверждают полученные результаты ранозаживления на протяжении 10 месяцев после нанесения костных дефектов. Можно сделать вывод о том, что препарат матрибон обладает остеоиндукционными и остеокондукционными свойствами, вызывая быстрые процессы репарации с полным зарастанием дефекта на ранних сроках, с формированием нормальной плотной костной ткани без кавернообразования в отдаленные сроки. В контрольной группе ранозаживление проходило естественным путем гораздо медленней, и качество формирующейся костной ткани было хуже – она не была плотной с многочисленными кавернами и полостями. Эти данные свидетельствуют о том, что именно присут-

ствии в композиции матрибон сывороточного биорегулятора вызывает восстановление костной ткани, поскольку отдельно ГАП и хитозановый гель не вызывают полное восстановление костной ткани на исследуемых сроках. Ранее была показана эффективность действия сывороточного биорегулятора на заживление кожных ран и ожогов, как в водном растворе, так и в составе хитозанового геля [2, 3]. На основании полученных данных можно рекомендовать применение композиции Матрибон для лечения различных переломов костей опорно-двигательной системы и в челюстно-лицевой хирургии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шайхалиев А.И., Стрецкий Г.М., Краснов М.С., Рыбакова Е.Ю., Тихонов В.Е., Ямскова В.П., Ямсков И.А. Действие новых композиций на восстановление костных дефектов у крыс в эксперименте // *Фундаментальные исследования*. 2013. № 9. Часть 2. С. 271–276.
2. Стрецкий Г.М., Краснов М.С., Рыбакова Е.Ю., Авдеенко О.Е., Тихонов В.Е., Шайхалиев А.И., Ямскова В.П., Ямсков И.А. Исследование влияния композиции на основе хитозанового геля и биорегулятора сыворотки крови на заживление гнойных ран у мышей // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2011. № 4. С. 211–214.
3. Краснов М.С., Рыбакова Е.Ю., Тихонов В.Е., Стрецкий Г.М., Авдеенко О.Е., Шайхалиев А.И., Ямскова В.П., Ямсков И.А. Противоожоговое действие композиции, содержащей хитозановый гель и биорегулятор сыворотки крови // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2012. № 2. С. 79–83.

---

## КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТРИКСЫ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

**Н.А. Павлов<sup>1</sup>, Е.В. Соловьева<sup>2</sup>, А.Ю. Федотов<sup>1</sup>, Л.А. Усакин<sup>2</sup>,  
М.А. Пальцев<sup>3</sup>, В.С. Комлев<sup>1</sup>, А.А. Пантелеев<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр., 49*

<sup>2</sup>*Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт», 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1*

<sup>3</sup>*Российская академия наук, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр. 14*  
*E-mail: a.a.pantel@gmail.com*

Биополимеры природного происхождения, такие как коллаген, альгинат или хитозан, являются перспективными материалами для тканевой инженерии, поскольку, в отличие от синтетики, предоставляют высоко физиологичную среду для клеточного компонента тканеинженерных конструкций. Вместе с тем, традиционно используемый коллаген (получаемый обычно из кожи свиней) как чужеродный белок создает проблемы с гистосовместимостью, может вызывать воспалительную реакцию у реципиента и являться переносчиком ряда инфекций. Таким образом, применимость коллагена в тканевой инженерии ограничена. Хитозан, со своей стороны, обладает низкой скоростью биодegradации. В силу этих обстоятельств рынок медицинских изделий на основе коллагена и хитозана сокращается. Перечисленных недостатков лишен полисахарид альгинат – биологически активный природный полимер обладающий широким спектром положительных медико-биологических свойств, включая его высокую биосовместимость и скорость биоразложения, аналогичную скорости регенерации тканей пациента. Альгинат активно используется как компонент различных имплантационных систем, как ростовой стимулятор при обра-



ботке ран различной этиологии, как антибактериальное и противовирусное средство, а также, как гемостатический агент с антитромбогенными свойствами и как препарат, обладающий стимулирующим воздействием на иммунную систему.

Нами разработаны методологические основы получения композиционных губчатых матриц на основе альгината сшитые двухвалентными ионами металлов ( $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ). Установлены условия формирования микроструктуры матриц в зависимости от соотношения компонентов системы: состав твердой фазы, дисперсность компонентов твердой фазы, концентрация альгината, рН суспензии, состав и соотношение сшивающих ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ , а также условий проведения процесса, включая степень вспенивания, температуру фиксации ( $-5$ ,  $-10$ ,  $-20$ ,  $-50$ ,  $-180$  °С) и наличие поверхностно активных веществ, наиболее эффективных в данной системе.

Биологические испытания показали, что материалы, содержащие от 80 до 30 % альгината, хорошо поддерживают жизнеспособность кератиноцитов и фибробластов кожи, эндотелиоцитов и мезенхимальных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки. Нами показано, что для колонизации фибробластами и кератиноцитами, альгинат-содержащие матрицы с диаметром пор 20–100 мкм являются наиболее предпочтительными, тогда как для стимуляции процесса васкуляризации матрикса требуется больший диаметр пор. Для создания функционального дермального эквивалента необходимо использование двуслойной комбинации мелкопористых альгинатных матриц (для формирования верхнего тканевого слоя) с крупнопористыми (для создания нижнего слоя, обеспечивающего активную васкуляризацию).

Дальнейшие исследования биологической активности матриц на альгинатной основе позволят создавать биоинженерные конструкции различного применения, как для терапии кожных дефектов (раны, трофические язвы, ожоги), так и для стимуляции регенерации в других тканях организма человека.

*Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 15–04–06089 «Регуляция ангиогенеза в биоинженерных тканевых эквивалентах», № НК 13–04–12038 «Исследование взаимодействия биоразлагаемых полимерных субстратов и клеточных компонентов кожи (кератиноциты и фибробласты) в ткане-инженерных конструкциях для регенеративной терапии кожных ран и ожогов», гранта РФФИ № 14–25–00146 «Механизмы регенерации эпителиальных тканей человека и поиск методов управления ими с целью использования в регенеративной медицине, объёмной реконструкции тканей in vitro и в фармакологическом тестировании».*

---

## **ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ГОНАРТРОЗЕ**

**С.Б. Панина<sup>1</sup>, И.В. Кролевец<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, 344006, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Большая Садовая, 105/42

<sup>2</sup>Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

E-mail: [tailana703@gmail.com](mailto:tailana703@gmail.com); [kivrostov@mail.ru](mailto:kivrostov@mail.ru).

Гонартроз (ГА) – артроз коленного сустава, от которого в мире страдают более 251 млн человек [1]. Многими исследованиями показана роль однонуклеотидного полиморфизма различных

генов в предрасположенности к артрозу, в том числе, к посттравматическому гонартрозу (ПТГА) [2]. Показано, что полиморфные варианты генов матриксных металлопротеиназ (ММП) влияют на уровень экспрессии и могут быть связаны с дегенеративными патологиями. Цель работы заключалась в поиске возможных ассоциаций полиморфных локусов генов *MMP1* и *MMP12* с предрасположенностью к развитию ПТГА.

В группу для генотипирования SNP-локусов были включены 117 пациентов с ПТГА II–III стадий по шкале Kellgren/Lawrence (46 мужчин/71 женщина; возраст  $46,33 \pm 1,44$  лет; ИМТ  $26,7 \pm 0,83$  кг/м<sup>2</sup>). В контрольную группу было включено 94 человека (возраст  $44,01 \pm 1,55$  лет; 39 мужчин / 55 женщин; ИМТ  $25,41 \pm 0,58$  кг/м<sup>2</sup>) без признаков ГА в анамнезе. Генотипирование полиморфных локусов проводили с использованием реагентов «SNP-экспресс» фирмы «Литех» (Россия) методом ПЦР на амплификаторе TerCus («ДНК-технология»); детекцию продуктов амплификации проводили в агарозном геле методом горизонтального электрофореза; анализ электрофореграмм – на трансиллюминаторе GelDoc («BioRad», USA). Различия частот аллелей и генотипов между группами оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ , для оценки ассоциации SNP и ПТГА рассчитывали отношения шансов (OR) с 95 % доверительным интервалом (CI).

Согласно результатам генотипирования, распределение частот встречаемости генотипов *-16071G/2GMMP1* и *A-82GMMP12* соответствовало закону Харди-Вайнберга в группах «случай» и «контроль». Частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного локуса *-16071G/2G* (rs1799750) гена *MMP-1* не различаются между группой пациентов с посттравматическим гонартрозом и контрольной группой (аллели –  $\chi^2=2,41$ ,  $p=0,30$ , генотипы –  $\chi^2=1,82$ ,  $p=0,18$ ). При этом после разделения по половому признаку обнаружены различия в частотах аллелей и генотипов локуса *-16071G/2G* у женщин с ПТГА и здоровых женщин (аллели –  $\chi^2=7,33$ ,  $p=0,03$ , генотипы –  $\chi^2=7,34$ ,  $p=0,007$ ).

Оказалось, что генотип *2G/2G* в 3,07 раз повышает риск развития ПТГА у женщин, OR=3,07 CI (1,24–7,62). Наличие *2G* создает дополнительный сайт для транскрипционных факторов семейства Ets и ведет к значительному усилению транскрипционной активности [3]. Показанная нами ассоциация генотипа *2G/2G* гена *MMP1c* с риском развития ПТГА у женщин может быть связана с увеличением продукции ММП-1 и, вследствие этого, с активацией катаболических процессов в синовиальной среде сустава. Известно, что женщины более подвержены развитию артроза коленного сустава, чем мужчины, вследствие анатомических (меньший объем хрящевой ткани), генетических и гормональных особенностей [4]. Согласно результатам нашего исследования, получены значимые различия частот встречаемости аллелей полиморфизма *A-82G* (rs2276109) гена *MMP-12* в общих выборках пациентов с ПТГА и здоровых лиц (аллели –  $\chi^2=4,76$ ,  $p=0,03$ , генотипы –  $\chi^2=5,58$ ,  $p=0,02$ ), а также только у женщин (аллели –  $\chi^2=3,77$ ,  $p=0,05$ , генотипы –  $\chi^2=4,36$ ,  $p=0,04$ ).

Таким образом, отмечается ассоциация данного полиморфизма с развитием ПТГА. Так, аллель *-82G* гена *MMP-12* ассоциирован с посттравматическим гонартрозом, поскольку наличие данного аллеля увеличивает в 1,90 раза риск развития патологии в общей выборке, OR=1,90 CI (1,11–3,25). Известна роль *MMP-12* в воспалении и ангиогенезе [5], эти процессы являются типичными для ПТГА. Проведенный анализ встречаемости полиморфных SNP-локусов показал, что локусами-маркерами повышенного риска развития посттравматического гонартроза в изученной популяции могут являться: *A-82GMMP-12* в общей выборке; *-16071G/2GMMP-1* только у женщин.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson A.S., Loeser R.F. Why is osteoarthritis an age-related disease? // Best Pract. Res. Clin. Rheumatol. 2010. Vol. 24. P. 15–26.
2. Valdes A.M., Doherty S.A., Muir K.R. et al. The genetic contribution to severe post-traumatic osteoarthritis // Ann. Rheum. Dis. 2013. Vol. 72. P. 1687–1690.
3. Rutter J.L., Mitchell T.I., Buttice G., Meyers J., Gusella J.F., Ozelius L.J., Brinckerhoff C.E. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter creates an Ets binding site and augments transcription // Cancer Res. 1998. Vol. 58. P. 5321–5325.

4. Hame S.L., Alexander R.A. Knee osteoarthritis in women // Curr. Rev. Muskuloskelet. Med. 2013. Vol. 6. P. 182–187.

5. Jormsjo S., Ye S., Moritz J. et al. Allele-specific regulation of matrix metalloproteinase-12 gene activity is associated with coronary artery luminal dimensions in diabetic patients with manifest coronary artery disease // Circ. Res. 2000. Vol. 86. P. 998–1003.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Базовая часть госзадания № 213.01–11/2014–32).*

---

## РОЛЬ НАРУШЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ В РАЗВИТИИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

**А.В. Печерский<sup>1</sup>, В.И. Печерский, А.Б. Смолянинов<sup>2</sup>, В.Н. Вильянинов<sup>3</sup>,  
Ш.Ф. Адылов<sup>2</sup>, А.Ю. Шмелёв<sup>1</sup>, О.В. Печерская<sup>1</sup>, В.Ф. Семиглазов<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, 193015, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

<sup>2</sup>Покровский банк стволовых клеток, 199106, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Большой проспект В.О., 85

<sup>3</sup>Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, 194044, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

<sup>4</sup>Научно-исследовательский институт онкологии им. профессора Н.Н. Петрова, 197758, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, 68

E-mail: a\_pechersky@mail.ru

После 40 лет у людей наблюдается снижение пула плюрипотентных стволовых клеток и повышение риска развития онкологических заболеваний.

В первой части исследование проводилось у 11 больных раком почки, мочевого пузыря, предстательной железы III–IV стадии заболевания в возрасте от 54 до 76 лет. Во второй части исследование проводилось у четырех пациентов 60–82 лет, которым в целях восстановления регенерации было проведено от 4 до 7 переливаний моноклеарной фракции периферической крови от молодых доноров 19–23 лет.

В первой части исследования через 1 месяц после проведения химиотерапии или таргетной терапии у всех 11 онкологических больных развивалась лейкопения, сопровождавшаяся увеличением содержания FGFb в крови в среднем в 1,74 раза. У четверых из них наблюдалось увеличение уровня human VEGF-A в среднем в 1,25 раза, у троих – увеличение уровня human EGF в среднем в 1,13 раза. Во второй части исследования у четверых пациентов через 3–6 месяцев после завершения курса из 4–7 трансфузий моноклеарной фракции периферической крови содержание ГКП CD34<sup>+</sup> периферической крови увеличилось в среднем в 3,25 до уровня молодых лиц, а уровень FGFb уменьшился в среднем в 1,78 раза. У двоих из них уровень human VEGF-A уменьшился в среднем в 1,48 раза, у троих – уровень human EGF уменьшился в среднем в 4,12 раза. В буккальном эпителии у всех четверых пациентов экспрессия p53 снизилась в среднем в 6,02 раза, у троих из них экспрессия Vcl-2 снизилась в среднем в 60,0 раз.

Таким образом, нарушение обновления тканей является основной причиной развития канцерогенеза у людей старше 40 лет. Избыточную стимуляцию митотической активности у них можно снизить до нормального уровня посредством восстановления численности пула плюрипотентных стволовых клеток при переливании моноклеарной фракции периферической крови от молодых доноров 18–23 лет одних с реципиентом групп крови и пола (патент РФ № 2350340).

# К ВОПРОСУ О ВОЗМОЖНОСТЯХ И МЕХАНИЗМАХ РЕПАРАТИВНОГО ГИСТОГЕНЕЗА СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И АМФИБИЙ

*И.А. Пономарева, В.Н. Давиденко*

*Южный федеральный университет, Академия физической культуры и спорта, 344065, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Днепроvский, 116  
E-mail: iaronomareva@sfedu.ru*

Одной из интенсивно разрабатываемых комплексных проблем современной гистологической науки и клинической медицины является проблема гистогенеза и регенерации тканей. Скелетная мышечная ткань, как одна из высокодифференцированных, составляет до 40 % массы тела человека. Необходимость глубокого и всестороннего познания закономерностей ее регенераторных возможностей обусловлена высокой частотой повреждения мышц при занятиях спортом, оперативных хирургических вмешательствах, при травматизации вследствие техногенных катастроф и террористических актов, после огнестрельных повреждений.

Возможности и механизмы репаративных процессов скелетной мышечной ткани в сравнительном филогенетическом аспекте изучались на наиболее распространенных лабораторных объектах экспериментальных исследований – беспородных белых крысах-альбиносах и озерных лягушках. Посттравматические изменения прямой мышцы живота (*m. rectus abdominis*) белых крыс (*Rattus rattus*) и озеёрных лягушек (*Rana ridibunda*) исследовались после разных видов механической травмы (передавливание браншами пинцета и разрез мышцы с последующим ее ушиванием).

Обнаруживаемые особенности гистологического строения и проявлений метаболизма прямой мышцы живота у *Rana ridibunda* во многом обуславливают специфичность ее посттравматической реорганизации. Для нее очевидны более пролонгированные по времени и менее выраженные по масштабам процессы дистрофии и некроза мышечных волокон, реактивные изменения эндомизия, лейко- и лимфоцитарная реакция.

Гистологические характеристики и исход восстановительных процессов в пределах поврежденного сегмента *m. rectus abdominis* крыс и озерных лягушек обусловлены масштабами альтерации и сохранностью мышечной фасции. Репаративный эффект был более выражен после передавливания исследуемой мышцы; лишь изредка он сопровождался отделением от поврежденных мышечных волокон ядерно-саркоплазменных территорий, еще реже – миосателлитоцитов. В связи с отсутствием проявлений их последующей дифференцировки обнаруживаемые в приранеvой зоне многоядерные симпластоподобные тканевые элементы не являются вторичными регенерационными миосимпластами.

Пролиферативная реакция ядер поврежденных мышечных волокон исследованной мышцы у крыс и озерных лягушек практически отсутствует. В саркоплазме «переживающих травму» фрагментов мышечных волокон происходит внутрисимпластическое перераспределение органелл и ядер по направлению к сухожильным переvычкам. Интенсивность этого процесса зависит от характера и темпов развития окружающей их соединительной ткани. Очевидны проявления деструкции большинства ядер.

Посттравматическая реактивность эндомизия в *m. rectus abdominis* крыс, уже начиная со вторых суток эксперимента, проявляется высокой биосинтетической и пролиферативной активностью фибробластов и эндотелия. Этот феномен особенно очевиден после передавливания. У озерных лягушек она выражена гораздо слабее и в более поздние сроки. Образующиеся *de novo* элементы соединительной ткани, заполняя очаг повреждения, способствуют частичной и полной дезинтеграции пограничных с ним участков мышечных волокон и существенно увеличивают масштабы дефекта в мышечном сегменте.

Расположенные в формирующемся соединительнотканном рубце фрагменты мышечных волокон обнаруживались у крыс до двадцатых суток эксперимента; у озерных лягушек – до шестидесятих. Вместе с отдаленными от повреждения участками мышечных волокон, характеризующимися проявлениями внутрисимпластической реорганизации, они формируют новые мышечно-соединительнотканые отношения, лишь отчасти репарируя поврежденный сегмент *m.rectus abdominis*.

---

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИКСОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОЖНЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ

*О.А. Романова<sup>1</sup>, Е.В. Сытина<sup>1</sup>, Т.Х. Тенчурин<sup>1</sup>, Т.Е. Григорьев<sup>1</sup>, Е.В. Соловьёва<sup>1</sup>,  
С.Г. Рудяк<sup>2</sup>, С.Н. Чвалун<sup>1</sup>, М.А. Пальцев<sup>3</sup>, А.А. Пантелеев<sup>1,3</sup>*

*<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт», 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1*

*<sup>2</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Российская Федерация, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4*

*<sup>3</sup>Российская академия наук, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр. 14  
E-mail: a.a.pantel@gmail.com*

Лечение обширных ожогов требует обязательного замещения не только эпидермиса кожи, но и дермы – утраченной соединительнотканой стромы кожи. Разработка искусственного аналога дермы, способного стать структурной основой для восстановления полноценного соединительнотканного каркаса кожи и формирования покрывающего его эпидермиса, т.е. продукта, активирующего регенераторные процессы, – один из наиболее перспективных подходов. Как известно, межклеточный матрикс выполняет не только структурную функцию, его регуляторная роль не менее важна. Последняя обеспечивается как за счет взаимодействия клеточных элементов непосредственно с компонентами матрикса, так и за счет связанных матриксом активных факторов. Фибробласты при культивировании на синтетическом материале способны синтезировать на его поверхности целый спектр различных компонентов естественного межклеточного вещества, что делает возможным последующее заселение имплантата другими типами клеток. Именно выбор оптимального материала искусственного матрикса остаётся ключевой проблемой в процессе создания дермального эквивалента.

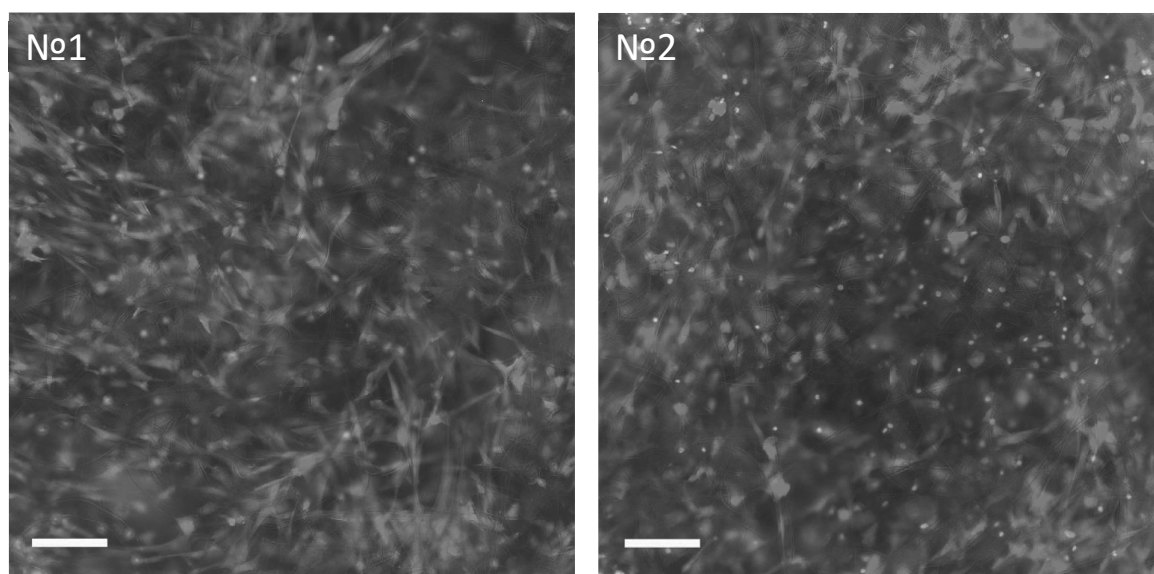
Целью работы является оценка влияния структурных характеристик нетканых полимерных матриксов (ацетата целлюлозы, поликапролактона, смеси поликапролактона с поливинилпирролидоном, поли-L-лактида, поли-D-L-лактида, хитозана и фторопласта Ф-42В) на основные клеточные функции первичных клеток кожи человека: пролиферацию, миграцию, синтез межклеточного матрикса, а также перспектив использования хитозана как в качестве основы, так и в качестве модифицирующей добавки при получении искусственных матриксов для тканевой инженерии кожи.

Показано, что пространственные характеристики матрикса непосредственно определяют способность материала поддерживать рост и нормальное функционирование фибробластов. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что толщина волокон 2–3 мкм (и, соответственно, размер пор материала около 20 мкм) является минимально достаточной для обеспечения высокого уровня пролиферации фибробластов и их проникновения в толщу полимерного матрикса. Фибробласты активно распространяются по поверхности всех протестированных материалов, принимая характерную для нормальных фибробластов веретеновидную форму. При этом на хитозане дермальные фибробласты образуют специфические рыхлые скопления клеток, никогда

не встречающиеся на образцах других материалов. В отличие от эпителиальных клеток, фибробласты способны синтезировать фибриллярный матрикс на полимерных образцах без добавок компонентов естественного межклеточного матрикса, заполняя им поры размером до 75 мкм и нивелируя значительные дефекты поверхности образца.

Роль состава и структуры матриксов на основе чистого коллагена, чистого хитозана и смеси этих полимеров в поддержании специфических клеточных функций оценивалась с использованием двух экспериментальных моделей: дермальных и комплексных кожных эквивалентах (включающих как фибробласты, так и кератиноциты). В отличие от коллагенсодержащих матриксов, чистый хитозан подавляет рост фибробластов, которые не входят в контакт с его волокнами, а формируют специфические клеточные агрегаты – сфероиды, и теряют способность синтезировать естественное межклеточное вещество. Вместе с тем, добавление хитозана стимулирует пролиферативную активность фибробластов на коллагене, что может быть связано со значительным улучшением механических характеристик коллаген-хитозановых матриксов по сравнению с чисто коллагеновыми. Исследование способности полимерных матриксов стимулировать заживление кожных ран *in vivo* показало, что вне зависимости от состава они способствуют сокращению времени полного заживления, при этом чисто хитозановые губки оказались наиболее эффективными. Таким образом, использование хитозана в качестве дополнительного модифицирующего компонента к полимерным матриксам наиболее перспективно.

Поскольку подготовка дермального эквивалента занимает длительное время, консервация эквивалентов, в составе которых уже имеются синтезированные фибробластами структурные и регуляторные белки, является одной из ключевых проблем. Наши исследования показали, что при замораживании/размораживании фибробластов на нетканом полилактидном матриксе более 50 % фибробластов сохраняют жизнеспособность и нормальную морфологию (рис.).



*Рис. Первичные дермальные фибробласты человека (образцы № 1, № 2) на нетканом материале после стандартной процедуры замораживания/размораживания. Оценка жизнеспособности с помощью системы флуоресцентных красителей «живой/мертвый» (LIVE/DEAD® Viability/Cytotoxicity Kit, Molecular Probes), шкала 200 мкм.*

Полученные данные могут служить основой для создания высокофункциональных дермальных эквивалентов и их последующего эффективного применения в клинической практике.

*Работа поддержана грантами РФФИ (13–04–12038 офи\_м), РФФ № 14–25–00146, Минобрнауки РФ (проект RFMEFI60414X0081).*

# ВЛИЯНИЕ ПРОТЕИН-ДИСУЛЬФИДИЗОМЕРАЗЫ *AGR2* НА ТРАНСКРИПТОМ ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ КЕРАТИНОЦИТОВ КОЖИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*Л.А. Усакин<sup>1</sup>, Е.А. Тверье<sup>1</sup>, А.М. Кульчицкая<sup>1</sup>, Ю.А. Сивкова<sup>1</sup>,  
Е.В. Соловьева<sup>1</sup>, А.Г. Зарайский<sup>2</sup>, А.А. Пантелеев<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 12318, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии РАН, 117997, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: a.a.pantel@gmail.com

Регенерация (полное восстановление структуры и функций утраченных или повреждённых органов) – один из ключевых адаптивных механизмов, широко распространенный среди различных таксономических групп растений и животных. Вместе с тем у млекопитающих, включая человека, способность к регенерации значительно снижена, что придает исследованиям механизмов этого процесса высокую терапевтическую значимость. Недавно была показана ключевая роль гена протеин-дисульфидизомеразы *Agr2* в регенерации конечностей у тритонов, однако потенциальная роль этого гена в контроле регенеративных процессов в тканях высших позвоночных остается неизвестной.

В нашей работе была исследована экспрессия гена *Agr2* (на уровне мРНК и белка) в коже лабораторных мышей линии C57BL в нормальных условиях и при индукции регенераторных процессов (депиляция) методами иммуногистохимии и ОТ-ПЦР. Было показано, что экспрессия *Agr2* в коже минимальна в норме и слабо меняется при депиляции. Для более полной характеристики возможных эффектов гена *Agr2* было проведено сравнение транскриптомов клеток эпидермиса (кератиноциты) новорожденных мышей дикого типа и *Agr2* нокаутных животных того же пола и возраста. Для этого из эпидермиса была получена культура клеток первичных кератиноцитов, проведено выделение РНК и осуществлен процесс секвенирования поли-А фракции РНК методом NGS (New Generation Sequencing). В работе обсуждаются результаты биоинформационного анализа данных секвенирования.

*Работа поддержана грантом РФФИ № НК 13–04–40195–Н.*

---

# ВЛИЯНИЕ БИОРЕГУЛЯТОРА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ, НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

*А.И. Шайхалиев<sup>1</sup>, И.В. Вахрушев<sup>2</sup>, М.С. Краснов<sup>3</sup>, К.Н. Ярыгин<sup>2</sup>,  
В.П. Ямскова<sup>4</sup>, И.А. Ямсков<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, 119121, Российская Федерация, г. Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 8

<sup>3</sup>Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-1, В-334, ул. Вавилова, 28

<sup>4</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26

E-mail: astemirsh@yandex.ru; vakhrunya@gmail.com; embrmsk@mail.ru; yamskova-vp@yandex.ru

В современной регенеративной медицине основные подходы, применяемые для восстановления объемных костных дефектов, подразумевают имплантацию в область повреждения тканеинженерных конструкций на основе прогениторных клеток, компонентов внеклеточного

матрикса и факторов роста. Последние могут оказывать влияние на течение репаративного процесса за счет дополнительной активации регенеративного потенциала реципиента, в том числе путем привлечения его собственных мультипотентных клеток и стимуляции их пролиферативной активности. В представленной работе рассматривается возможность применения в остеорегенеративной терапии мембранотропного гомеостатического тканеспецифического биорегулятора (МГТБ), получаемого из сыворотки крови крупного рогатого скота.

МГТБ представляет собой комплекс пептидов с молекулярными массами 1448, 1338 и 1151 Да, а также белка-модулятора, представителя мультисемейства альбуминов сыворотки крови [1, 2]. Было обнаружено [2], что пептиды и белок модулятор в присутствии ионов кальция образуют комплекс, проявляющий биологическую активность в сверхмалых дозах, что указывало на потенциальные остеиндуктивные свойства МГТБ.

В качестве модельной клеточной культуры для оценки биологического действия изучаемого биорегулятора были использованы мезенхимальные клетки пульпы молочного зуба человека. Известно, что клетки, полученные из данного источника, обладают всеми основными свойствами МСК, такими как характерный профиль экспрессии поверхностных маркеров и способность к дифференцировке в различных направлениях, включая костную ткань [3].

Исследование влияния МГТБ на пролиферативный потенциал культивируемых клеток проводили в течение 10 дней. Начиная с трех дней культивирования наблюдалась стимуляция пролиферативной активности МСК пульпы молочного зуба под действием биорегулятора. Действие биорегулятора сохранялось на протяжении всего эксперимента, в результате чего через 10 дней с момента его начала количество клеток, культивируемых в среде с препаратом, было значительно выше по сравнению с контрольной культурой. Нами было выдвинуто предположение о возможном влиянии биорегулятора на миграционную активность МСК. Для оценки скорости миграции клеток был использован автоматизированный микроскоп IncuCyteZoom (EssenBiosciences, США). Принцип действия прибора при исследовании клеточной миграции представляет собой адаптированный метод скрэтч-теста (от англ. scratch – царапина). В культурах клеток на стадии монослоя (90–100 % конфлюэнтности) были нанесены царапины, а затем проводилась регистрация их заполнения мигрировавшими клетками. Критерием скорости заживления царапины было процентное отношение площади, покрытой клетками поверхности внутри царапины к исходной площади царапины. Для этого были подобраны соответствующие параметры анализа изображения в программном пакете IncuCyte.

Результаты эксперимента показали, что полное зарастание царапин во всех лунках наступало на третий день после их нанесения. При этом различий в динамике зарастания между группой лунок с клетками, культивируемыми под действием биорегулятора, и контрольной культурой выявлено не было. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что биорегулятор, выделенный из сыворотки крови, стимулирует пролиферацию МСК пульпы молочного зуба, однако не обладает влиянием на скорость миграции клеток в скрэтч-тесте. Результаты настоящей работы позволяют сделать вывод о том, что исследуемый биорегулятор сыворотки крови может быть использован в составе тканеинженерных аналогов кости для индукции пролиферативного потенциала клеток, а также в качестве самостоятельного терапевтического агента при восстановлении костных дефектов. Дальнейшие исследования биологических свойств биорегулятора будут, в том числе, включать в себя исследования его влияния на дифференцировку клеток и способности выступать в качестве хемоаттрактанта.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ямсков И.А., Виноградов А.А., Даниленко А.Н. и др. Низкомолекулярный гликопротеин из сыворотки крови крупного рогатого скота: структура и свойства // Прикладная биохимия и микробиология. 2001. Т. 37. № 1. С. 36–42.



2. Ямскава В.П., Рыбакова Е.Ю., Виноградов А.А. и др. Исследование белка-инактиватора адгезивного гликопротеина из сыворотки крови млекопитающих // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. № 4. С. 407–413.

3. Вахрушев И.В., Суздальцева Ю.Г., Бурунова В.В., Каралкин П.А., Лупатов А.Ю., Ярыгин К.Н. Мезенхимальные клетки пульпы молочного зуба: цитофенотип и первичная оценка возможности применения в тканевой инженерии костной ткани // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2010. № (1). С. 55–60.

---

## **ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ НА КАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДА НАДЫМ ЯМАЛО-НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА**

*Е.В. Шинкарук, Е.В. Агбалян*

*Научный центр изучения Арктики», 629730 Российская Федерация, ЯНАО, г. Салехард, ул. Республики, 73*

*E-mail: elena1608197@yandex.ru*

Цель исследования: дать характеристику цитогенетических, пролиферативных и деструктивных показателей клеток буккального эпителия у жителей г. Надыма в зависимости от качества потребляемой питьевой воды.

Цитогенетические исследования проведены на репрезентативной выборке из числа жителей г. Надыма в количестве 57 человек, из них 28 % мужчин и 72 % женщин. Средний возраст обследованных составил  $37,6 \pm 9,4$  лет. Обследованные лица разделены на три группы в зависимости от качества потребляемой питьевой воды: группа 1 – качество питьевых вод соответствует требованиям СанПиН 2.1.4.1074–01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества»; группа 2 – качество питьевых вод не соответствует требованиям государственных стандартов, превышение ПДК вредных загрязнителей не более 1,5 раз; группа 3 – качество питьевых вод не соответствует требованиям государственных стандартов, превышение ПДК вредных загрязнителей в 2 и более раз. Группы сформированы на основе стратегии попарного отбора.

Препараты эксфолиативных клеток буккального эпителия были подготовлены в соответствии с [1]. Препараты анализировали в соответствии с классификацией и критериями Л.П. Сычевой [2–4].

Статистический анализ включал описание средних значений и стандартных отклонений, t-критерия Стьюдента, Манна-Уитни. При уровне  $p < 0,05$  различия оценивались как статистически значимые.

Частота клеток с микроядрами в обследованной выборке составила  $0,13 \pm 0,33$  %, частота клеток с протрузиями –  $1,27 \pm 0,56$  %. Доля клеток с микроядрами и ядерными протрузиями выше в группах 2 и 3, подверженных более значимой химической нагрузке. Интегральный показатель цитогенетического действия достоверно выше в группах № 2 и № 3 ( $1,8 \pm 0,68$  и  $1,4 \pm 0,45$ ). Проллиферативные показатели не выходят за рамки нормальных значений. Частота двуядерных клеток варьирует от  $2,2 \pm 1,46$  до  $3,6 \pm 1,37$  % (фоновый ориентировочный диапазон составляет 0–5 %). Доля двуядерных клеток максимальная в группе сравнения № 3. Среднее значение частоты клеток со сдвоенными ядрами находится в пределах нормы ( $1,6 \pm 0,78$  % против 0–6 %, соответственно).

Таким образом, проведенное исследование показало, что у группы обследованных лиц, потреблявших воду, не соответствующую гигиеническим стандартам, в два раза выше такие кариологические показатели, как частота клеток с ядром атипичной формы и индекс цитогенетических повреждений.

#### *ЛИТЕРАТУРА*

1. Методические рекомендации «Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек полости носа и рта у человека». М.: Научный совет РАМН и МЗ и СР по экологии человека и гигиене окружающей среды, 2005. 37 с.
2. Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях / Под ред. Ю.А. Рахманина, Л.П. Сычевой. М.: Гениус, 2007. 312 с.
3. Сычева Л.П. Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека. // Медицинская генетика. 2007. № 11. С. 3–11.
4. Сычева Л.П. Цитогенетический мониторинг для оценки безопасности среды обитания человека // Гигиена и санитария. 2012. № 6. С. 68–72.

## ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГАМЕТОФОРОВ МХА *Physcomitrella patens*, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ИНОКУЛЯЦИЕЙ ФИТОПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Е.Д. Барина, С.В. Виноградова

Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Российская Федерация,  
г. Москва, Ленинский пр., 33, корп. 2

E-mail: svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru

Изучение взаимодействий между растением и патогеном является одной из актуальных задач современной биологии. Мох *Physcomitrella patens* – растение, наиболее близкое к риниофитам, колонизировавшим сушу около 480 миллионов лет назад. Поэтому *P. patens* является удобным объектом для изучения эволюции механизмов устойчивости современных растений к патогенам.

Ранее было изучено взаимодействие *P. patens* с некротрофными патогенами: *Erwinia carotovora* и грибами родов *Botrytis* и *Pythium*. Целью нашей работы является изучение взаимодействия специализированных фитопатогенных бактерий родов *Xanthomonas* и *Pseudomonas* и мха *P. patens*.

Гаметофоры *P. patens* культивировали на агаризованной питательной среде Кнопа в течение двух месяцев, а затем инокулировали фитопатогенными бактериями *Xanthomonas arboricola*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas viridiflava* (коллекция ФИЦ Биотехнологии РАН). Бактерии наращивали на агаризованной питательной среде LB в течение 48 часов, готовили суспензию с оптической плотностью 0,4 и использовали ее для инокуляции гаметофоров. В качестве контроля использовали инокуляцию водой.

При инокуляции *P. patens* бактериями *X. arboricola* и *P. syringae* было отмечено слабое пожелтение гаметофоров. Полную гибель гаметофоров наблюдали после инокуляции бактериями *P. viridiflava*, который вызывал изменение окраски уже на второй–третий день после инокуляции.

Для подтверждения размножения фитопатогенных бактерий на гаметофорах *P. patens* сразу после инокуляции, на второй и на пятый день после инокуляции проводили выделение бактерий из гаметофоров мха. Для этого делали смыв бактерий с поверхности гаметофоров и растирали их до получения однородной массы. Суспензии, полученные после смыва с поверхности и после растирания гаметофоров, разводили в  $10^5$ – $10^9$  раз, высевали на питательную среду LB и подсчитывали количество бактериальных колоний. Было показано увеличение количества колоний всех изучаемых бактерий на питательной среде на второй и пятый день после инокуляции, что свидетельствует о том, что изучаемые штаммы *X. arboricola*, *P. Syringaeu*, *P. viridiflava* являются патогенами *P. patens*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13–04–40104 и Гранта Президента РФ МК -7138.2015.4.

# АНАЛИЗ МЕТАБОЛОМА *Physcomitrella patens* ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ФИТОПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

**Е.Д. Барина<sup>1</sup>, С.В. Виноградова<sup>1</sup>, А.Н. Князев<sup>2</sup>, Г.П. Арапиди<sup>3</sup>, И.А. Фесенко<sup>3</sup>,  
А. Урбан<sup>3</sup>, Р.А. Хазигалеева<sup>3</sup>, А.Л. Шаварда<sup>4</sup>, А.Н. Игнатов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр., 33, корп. 2

<sup>2</sup>Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Российская Федерация, г. Москва, Тимирязевская, 49

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. академиков И.М. Шенякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, Миклухо-Маклая, 16/10

<sup>4</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Научно-исследовательский центр ресурсов для молекулярных и клеточных технологий, 199034, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

E-mail: svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru

Актуальной задачей современной биологии является изучение молекулярных механизмов формирования иммунитета растений и изучение эволюции функций отдельных генов, участвующих во взаимоотношениях растения и патогена. Мхи наиболее близки к первым колонизировавшим сушу организмам и являются новым модельным объектом для изучения взаимодействий растений с фитопатогенами. Было показано, что оомицеты *Phytiumirregulare* и *Pythium debaryanum* способны заражать мох *Physcomitrella patens*, вызывая некротизацию тканей. Некротрофные грибы, такие как *Botrytis cinerea*, *Verticillium sp.*, *Aspergillus niger*, *Sclerotium sclerotorum* и *Fusarium graminearum*, а также бактерии *Erwinia carotovora* заражают *P. patens*. Все они поражают растения за счет неспецифических токсинов и экзоферментов, убивающих клетки до проявления реакции устойчивости. Сообщения о взаимодействии *P. patens* и специализированных бактериальных патогенов, которое строится на основе взаимной регуляции метаболических и транспортных систем хозяина, и патогена, отсутствуют. Поэтому изучение метаболома мха *P. patens*, зараженного специализированными фитопатогенными бактериями, является актуальной задачей.

Нами были впервые обнаружены патогенные для *P. patens* штаммы специализированных патогенов *Xanthomonas arboricola*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas viridiflava* (коллекция ФИЦ Биотехнологии РАН), которые были использованы в данном исследовании для инокуляции гаметофитов. В качестве контроля использовали инокуляцию водой. Из инокулированных гаметофитов выделяли метаболиты и методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии определяли их состав. В результате показано, что бактерии *P. viridiflava* были наиболее агрессивными, индуцировали накопление соединений, участвующих в системной устойчивости растений и необходимых для размножения бактерий в растениях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13–04–40104 и Гранта Президента РФ МК -7138.2015.4.

---

## О ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЛОКАХ МЕХАНИЗМА КОНСОЛИДАЦИИ ПАМЯТИ

**В.С. Коханов**

E-mail: КОХАНОВ@yandex.ru

При несущей частоте 0,3 кГц за одну секунду нейрон способен обработать слово  $2^{333}$ , т.е.  $1,7498 \cdot 10^{100}$ . Процесс консолидации памяти оценивается в 30 мин, значит, это число надо

возвести в 1800 степень (60 с · 30 мин), чтобы осознать, из какого количества сигналов нейрон способен выявить физиологически значимый стимул, достойный запоминания. ДНК в процессе консолидации памяти, вроде как, не участвует из-за ограничений по информационной емкости. Кроме того, треть нейронов у *Megaphragma mymaripinne* [1] на стадии имаго (когда животное охотится, летает и размножается) теряют ядра.

Однако, кроме наследуемого информационного массива в виде ДНК, есть еще и информационный массив, формируемый особью. Гликаны состоят из шести различных мономеров, у которых есть шесть реакционноспособных связей. У электрического угря имеется 500 мономерных остатков в составе гликанов натриевого канала, но обычно мономерных остатков на натриевом канале в три раза меньше [2]. Подсчитаем количество вариантов структуры  $6 \cdot 6^{166} = 2,2193 \cdot 10^{258}$ . Вроде бы много, но живыми организмами используется гораздо меньше структурных вариантов гликанов, т.е. структура находится под давлением отбора.

Гликаны являются продуктом работы CAZy (Carbohydrate-Active-enZymes) [3], структура которых должна быть представлена в геноме. CAZy транслируются с трансмембранным доменом [4], и только после ограниченного протеолиза переходят в растворимую форму, сохраняя ферментативную активность. При протеолизе устраняются пространственные ограничения для взаимодействий с субстратом-акцептором. Процесс протеолиза зависит от функционального состояния клетки. Гликаны располагаются на наружной части плазматической мембраны и могут передавать межклеточному сообществу сообщения о внутриклеточных событиях. Что является приемником сообщений?

Отмечено специфическое повышение транскрипции siglec (Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectin) в микроглиоцитарной популяции нервной ткани [5]. Из клеточной популяции микроглиоцитов выделена субпопуляция Axon Initial Segment–Associated Microglia [6]. Не тот ли это фактор (наряду с факторами, упомянутыми Д.А. Сахаровым), который переводит нейрон из рефлексивной парадигмы в парадигму активного нейрона (по Ю.И. Александрову)?

А теперь обратим внимание на миелиновые оболочки. У зверей они представлены концентрической спиралью, а у первичноротых расположены вдоль нейрита [7], по факту – наличествует конвергенция, зачем? Учтем, что синхронизация постсинаптических потенциалов на дендритах интегративного нейрона может способствовать формированию потенциала действия. Возникает вопрос: как осуществить синхронизацию технологически? Если менять скорость передачи ПД в рецептивном поле нейрона, то синхронизации добиться можно, а именно, адгезией глиальной клетки на нейрите, что вызовет сальтоторную передачу возбуждения на этом участке нейрита. Значит, что-то должно незначительно менять скорость проведения потенциала действия, прежде чем эволюционным процессом будет поддержана тенденция, которая и привела к формированию миелиновых оболочек у неродственных организмов.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

В гликанах могут происходить структурные изменения, связанные с электрофизиологической активностью нейрона.

Микроглиоциты могут использовать siglec при мониторинге функционального состояния нейрона. Возникает вопрос об использовании этой функциональной связи в процессе синаптического прунинга.

Концепция нейронной сети недостаточна для моделирования работы мозга, поскольку не учитывает: а) нейроглиальные взаимодействия, функционирующие как система автономных модулей; б) процессы спилловера, работающие как локальные аналоговые вычислители в среде межклеточного матрикса.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Polilov A.A. The smallest insects evolve anucleate neurons // *Arthropod Struct. Dev.* 2012. Jan. Vol. 41(1). P. 29–34.
2. Hervé Duclohier. Structure–function studies on the voltage-gated sodium channel // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes.* 2009. Vol. 1788. Issue 11, November. P. 2374–2379.

3. Carbohydrate-Active enZymes Database, available at: <http://www.cazy.org/>
  4. *Ajit Varki, Richard D. Cummings, Jeffrey D. Esko, Hudson H. Freeze, Pamela Stanley, Carolyn R. Bertozzi, Gerald W. Hart, and Marilynn E. Etzler.* Essentials of Glycobiology, 2nd edition. CSHL Press, 2009. 784 p.
  5. An RNA-Seq transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex, available at: [http://web.stanford.edu/group/barres\\_lab/brain\\_rnaseq.html](http://web.stanford.edu/group/barres_lab/brain_rnaseq.html)
  6. *Kelli Baalman, Miguel A. Marin, Tammy Szu-Yu Ho, Marlesa Godoy, Leela Cherian, Claudia Robertson, and Matthew N. Rasband.* Axon Initial Segment–Associated Microglia // The Journal of Neuroscience. 2015. February 4. Vol. 35(5). P. 2283–2292.
  7. *Kettenmann H. and Ransom B.R.* Neuroglia. 3rd edition. Oxford Univ. Press, 2012. 995 p.
- 

## СПЛЕНОМЕГАЛИЯ У ГРЫЗУНОВ – ИНДИКАТОР НАЛИЧИЯ В ПОПУЛЯЦИИ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ФАКТОРА

*Г.В. Оленев<sup>1</sup>, Н.М. Салихова<sup>2</sup>, Е.Б. Григоркина<sup>1</sup>, Н.Е. Колчева<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Институт экологии растений и животных УрО РАН, 620144, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

<sup>2</sup>ЗАО «Научно-производственный центр «СибГео», 626016, Российская Федерация, г. Тюмень, ул. Пермякова, 46

E-mail: [olenev@ipae.uran.ru](mailto:olenev@ipae.uran.ru); [nmsalikhova@mail.ru](mailto:nmsalikhova@mail.ru); [grigorkina@ipae.uran.ru](mailto:grigorkina@ipae.uran.ru); [kolcheva@ipae.uran.ru](mailto:kolcheva@ipae.uran.ru)

С современных позиций популяция рассматривается как динамическая биологическая система, имеющая внутренние механизмы, обеспечивающие ее существование в меняющихся условиях среды. Гигантские селезенки – спленомегалию (СМ) у грызунов разных видов, населяющих территории Восточной и Западной Европы, Азии, Северной Америки, Японии и др. регистрировали со второй половины прошлого столетия [1, 2]. В норме вес селезенки у грызунов составляет – 40–80 мг, при СМ – достигает 3,5 г. Огромный вес органа, часто превышающий вес печени, позволяет отнести его к разряду феномена [3]. Именно вследствие высокой изменчивости веса селезенки и отсутствия четкого понимания причин наблюдаемого явления, данный орган не вошел в число используемых морфофизиологических индикаторов [4].

Основой для анализа СМ послужил современный функционально-онтогенетический подход [5], позволяющий работать с однородными выборками животных из природных популяций. Приведена оценка параметров, обоснована граница «норма-СМ» и предложен отдельный анализ двух качественных состояний [3]. На основе данного подхода рассмотрена взаимосвязь СМ с типами онтогенеза особей (функциональное состояние, связанное со спецификой роста, развития, участия в репродукции). На примере цикломорфных грызунов трех родов (*Clethrionomys*, *Sylvaemus*, *Microtus*), населяющих Ильменский заповедник (Южный Урал Челябинская обл.) представлены результаты экологического анализа СМ [6]. Определен диапазон варьирования индекса селезенки и доля особей со СМ у каждого из семи анализируемых видов грызунов. Подробно охарактеризован вид-носитель СМ в исследуемом локалитете. Для вида носителя проведен сопряженный анализ многолетней динамики численности и феномена СМ, а также проведена оценка эффектов факторов риска на шансы развития СМ. Рассмотрена взаимосвязь СМ с зараженностью животных рядом трансмиссивных инфекций, как одним из компонентов сложных трехчленных паразитарных систем, формирующихся в естественных биоценозах Южного Урала. С целью поиска причин СМ представлены первые результаты лабораторных исследований для выявления распространенных и эпидемически значимых в Уральском регионе трансмиссивных инфекций, таких как моноцитарный эрлихиоз человека, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, икодовый клещевой боррелиоз, туляремия, возможные варианты микст-инфекций (одновременная зараженность несколькими возбудителями).

В итоге, полученные материалы рассматриваются с позиций системной биологии, ориентированной на изучение сложных взаимодействий в живых системах; обсуждается универсальность функционально-онтогенетического подхода для анализа широкого спектра показателей; обосновывается использование селезенки как индикатора наличия в популяции повреждающего фактора.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kawahara M., Suto C., Rikihisa Y., Yamamoto S., Tsuboi Y. Characterization of ehrlichial organisms isolated from a wild mouse // J. of clinical microbiology. 1993. Vol. 31. № 1. P. 89–96.
2. Yurdakul P., Dalton J., Beattie L., Brown N., Erguven S., Maroof A., Kaye P.M. Compartment-specific remodeling of splenic micro-architecture during experimental visceral leishmaniasis // Amer. J. of pathology. 2011. Vol. 179. № 1. P. 23–29.
3. Оленев Г.В., Пасичник Н.М. Экологический анализ феномена гипертрофии селезенки с учетом типов онтогенеза цикломорфных грызунов // Экология. 2003. № 3. С. 208–219.
4. Шварц С.С., Смирнов В.С., Добринский Л.Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск: АН ССР, 1969. 387 с.
5. Оленев Г.В. Альтернативные типы онтогенеза цикломорфных грызунов и их роль в популяционной динамике (экологический анализ) // Экология. 2002. № 5. С. 341–350.
6. Оленев Г.В., Салихова Н.М., Григоркина Е.Б., Колчева Н.Е. Феномен спленомегалии в популяциях цикломорфных грызунов: проявление, экологические факторы риска, причины // Вестник ТвГУ. Серия «Биология и экология». 2014. № 4. С. 160–167.

*Работа частично поддержана Программой фундаментальных исследований УРО РАН № 15–3–4–49.*

## REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF SOME ARMENIAN APRICOT CULTIVARS

*A.A. Nebish<sup>1,2</sup>, G.S. Santrosyan<sup>3</sup>, H.H. Devejyan<sup>2</sup>, R.M. Aroutiounian<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>*Yerevan State University, Faculty of Biology, Department of Genetics and Cytology, 1, Alex Manoogian St., Yerevan, Armenia, 0025*

<sup>2</sup>*Institute of Molecular Biology of National Academy of Sciences, Group of Plant genetics and immunology, 7, Hasratyan St., Yerevan, Armenia 0014*

<sup>3</sup>*Armenian National Agrarian University, Faculty of Agronomy, 74, Teryan St., Yerevan, Armenia, 0009*  
*E-mail: armeno\_a@rambler.ru; Santros\_gagik@mail.ru; h\_devejyan@mb.sci.am; rouben\_a@hotmail.com*

Apricot is one of the most important, qualified orchard products of Armenia. One of the three origins of cultivated apricot is the near-eastern Centre that includes Armenia.

Cultivars of gene pool of Armenian apricots (*Prunus armeniaca* Linnaeus, syn. *Armeniaca vulgaris* Lam.) are characterized by long period of maturing and includes more than 80 original local cultivars and hybrids with numerous wild relatives and clones.

Floral biology, male and female sterility of the most valuable local cultivars of Armenian apricots Yerevani (Shalakh) and Spitak were studied and recorded according to UPOV international guideline. Flowers at the FB stage were collected from the Nalbandyan Experimental Station of Armenian National Agrarian University (Armavir province, Armenia) and two farms in Kanaker and Malatia Yerevan's districts. Morphometric features of 100 flowers for each variant were described. Pollen was analyzed on 5000 pollen grains for each sample. For cytoembryological investigation 30 flowers per variant were fixed by FAA fixative (3.7 % v/v formaldehyde, 50 % ethanol, 5 % acetic acid) and stained by Mayer's hematoxylin and eosin. Permanent slides with paraplast-embedded flower's sections were analyzed.

The analysis of the apricot flowers had shown different positions of stigma relative to anthers in investigated cultivars. The pistils with average length from 11.8 mm to 15.8 mm in Yerevani (Shalakh) and from 12.0 to 13.9 mm in Spitak cultivars were developed. Female sterility of investigated cultivars demonstrated low level – from 5.0 to 6.9 % for Yerevani (Shalakh) and from 7.8 to 17.4 %. Almost in all developed flowers the pistils contained one developed ovule with cells of embryo sac and another ovule was degenerated, and high level of pollen sterility was detected. The correlation of female sterility with resistance of different cultivars to yearly climate changes has to be investigated.

Male sterility varied from 19.0 to 51.1 % in Spitak cultivar and 48.9 to 60.9 % in Yerevani (Shalakh) cultivar. The fruit set of Spitak cultivar differed from low to high, depending from investigated site. However, Yerevani (Shalakh) with high level of pollen sterility due to its self-incompatibility is characterized by high fruit set in all investigated sites. Is the self-incompatibility the only reason of such differences, has to be analyzed.

Thus, the study on the reproductive biology of Armenian apricot cultivars causes many questions and their solution can provide valuable information for success of breeding programs.

*This research was supported by an ANSEF plant-3934 grant.*



# ИССЛЕДОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ УСТОЙЧИВОСТИ РИСА К ПИРИКУЛЯРИОЗУ

К.В. Азарин<sup>1</sup>, М.С. Макаренко<sup>1</sup>, В.А. Хачумов<sup>1</sup>, П.И. Костылев<sup>2</sup>, А.В. Усатов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>ВНИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко, 347740, Российская Федерация, г. Зерноград, Научный городок, 3

E-mail: azkir@rambler.ru

Исследования молекулярных маркеров приобретают все больший интерес в качестве нового эффективного инструмента в селекции сельскохозяйственных культур. В частности, ДНК-маркеры могут быть использованы в селекции риса на устойчивость к пирикуляриозу – опасному заболеванию, вызываемым несовершенным грибом *Piricularia oryzae*. В настоящее время известны гены *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, участвующие в резистентности растений риса к патогену, а их аллельные варианты, придающие устойчивость к различным расам *P. oryzae*, маркированы. Тем не менее, аллельные вариации микросателлитных локусов, ассоциированные с определенным признаком в родственной группе генотипов не всегда коррелируют с таковым у генотипов, имеющих иное происхождение. Данное обстоятельство может приводить к ошибочным результатам при анализе гибридной популяции на наличие вводимых аллелей. В связи с чем было проведено исследование информационной ценности SSR маркеров Rm527, SSR140, Rm144, Rm224, Rm72 и Rm310 (<http://gramene.com>) при интрогрессии генов устойчивости к пирикуляриозу *Pi1*, *Pi2*, *Pi33* в генотипы отечественных сортов риса. Материалом исследования служили гибридные растения F<sub>2</sub>, полученные на основе чувствительного к пирикуляриозу сорта-стандарта Боярин подвида *japonica* и линий C101-A-51 и C101-Lac подвида *indica* – донорами *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* генов.

В результате молекулярно-генетического анализа образцов риса по 2 микросателлитным маркерам локуса *Pi-1* было показано, что только Rm224 дает специфические хорошо воспроизводимые спектры и является информативными для идентификации *Pi-1*. На рисунке 1 представлены результаты SSR-анализа с маркером гена *Pi-1* F<sub>2</sub>-растений из комбинации скрещивания Боярин×C104-Lac.

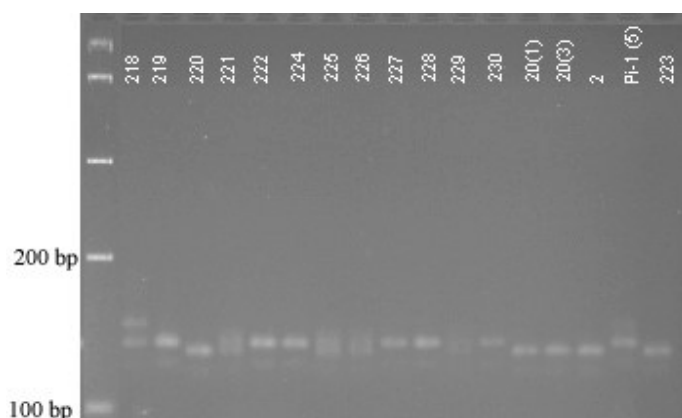


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК риса с праймером Rm224. Маркер молекулярной массы – 100 п.н.

Видно, что образцы с номерами 220, 20(1), 20(2), 2, 223 несут аллель, унаследованную только от материнской формы – сорта Боярин. Образцы 219, 222, 224, 227, 228, 230 являются гомозиготами по донорной аллели локуса *Pi-1*. При анализе аллельного состояния локусов *Pi-2*

и *Pi-33* наибольшую информативность проявили SSR-маркеры Rm527 и Rm310, соответственно. На рисунке 2 А представлены результаты электрофоретического разделения продуктов ПЦР маркера Rm527, сцепленного с геном *Pi-2*. Аллель донора устойчивости отцовской линии С101-А-51, обозначенной на рисунке *Pi2(2)*, обнаруживается в гомозиготном состоянии у 6 представленных образцов. У растений 217, 221, 222, 226 присутствуют донорная и материнская аллели, и они являются гетерозиготными по локусу *Pi-2*. Остальные образцы несут только аллель, унаследованную от сорта Боярин, и подлежат выбраковке при дальнейшей селекции.

На рисунке 2 Б приведен пример SSR-анализа образцов риса с маркером RM224. Донорная аллель гена *Pi-33* выявлена в растениях с номерами 21, 227, 25, 28, 31, которые являются гомозиготными по изучаемому локусу. Образцы 32 и 33 в данном случае несут только аллель, унаследованную от сорта Боярин.

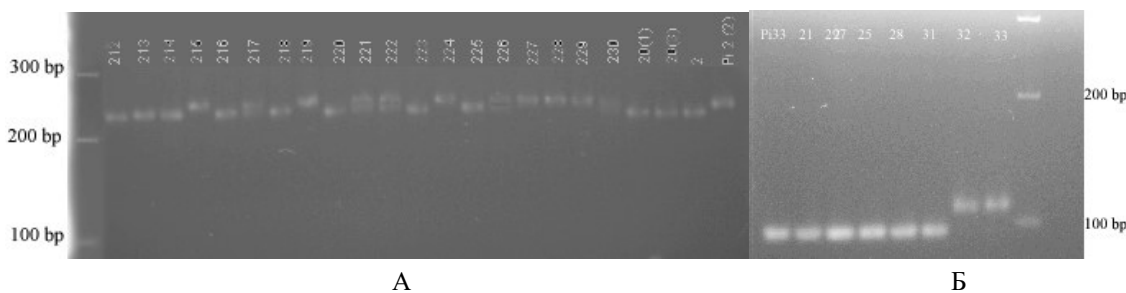


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК риса с праймером: А – Rm527; Б – Rm310. Маркер молекулярной массы – 100 п.н.

Таким образом, экспериментально подтверждена эффективность использования микросателлитных маркеров Rm224, Rm527, Rm310 при интрогрессии генов устойчивости к пирикулярриозу *Pi1*, *Pi2*, *Pi33* в генотипы элитных отечественных сортов риса. Сочетание индивидуального отбора по морфотипическим признакам и маркерной селекции позволит сократить селекционную схему и получить образцы с пирамидированными генами *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* в гомозиготном состоянии, с комплексом признаков, адаптивных к агроклиматическим условиям юга России.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.

## ВЛИЯНИЕ ВЫБОРА КОГНИТИВНОЙ СТРАТЕГИИ НА УСПЕШНОСТЬ ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ

*Е.К. Айдаркин, О.Л. Кундупьян, Ю.Л. Кундупьян, М.Ю. Бибов*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: aek@sfedu.ru; olkundupyayn@sfedu.ru; Julia\_leo@mail.ru; mbibov@gmail.ru*

В литературе существует корреляция между показателями рабочей памяти человека и академической успеваемостью. Как правило, студенты, демонстрирующие хорошую успеваемость в обучении, обладают высоким уровнем развития рабочей памяти. В то же время студенты с низким уровнем развития рабочей памяти имеют низкую успеваемость. Рабочая память лежит в основе способностей к обучению. В процессе информатизации образования для реализации

принципа наглядности в обучении используется большое количество трехмерных моделей. А у разных людей наблюдаются разные уровни пространственных способностей. Пользу от использования трехмерных моделей в процессе обучения получают только студенты с высокими пространственными способностями, в то время как студенты с низкими пространственными способностями мало чему обучаются. Кроме того, пространственное мышление и воображение играют большую роль в инженерной и научной деятельности.

Целью данной работы было оценить влияние уровня развития навыка решения вербальных и невербальных задач на качество выполнения самостоятельной работы студентами в процессе выполнения НИР по модулю «Опорно-двигательная система» в курсе «Анатомия человека».

В исследовании принимали участие студенты Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 24 практически здоровых обследуемых, средний возраст – 19 лет. В качестве модели деятельности использовали решение вербальных и невербальных задач. В первой серии необходимо было проанализировать 100 слайдов для каждой задачи, исключая неподходящее по смыслу слово или картинку на слайде, а во второй серии студентам предлагали выполнить теоретические и практические задачи из электронного учебного пособия (ЭУП) «Анатомия человека», модуль «Опорно-двигательная система». Во время выполнения теста первой серии регистрировали ВР, ЭЭГ и ССП. Оцифрованная ЭЭГ и ВР экспортировались в программную среду MATLAB, где проводилась дальнейшая обработка сигналов.

Анализ эффективности решения вербальных и невербальных задач показал, что лучше всего с деятельностью справлялись «успешные» студенты. У них было высокое качество распознавания слов и картинок и относительно небольшое количество неправильных ответов и пропусков сигналов. «Средние» студенты имели высокий уровень решения вербальных задач, но им труднее давались образные задачи и чаще встречались пропуски сигналов. «Неуспешные» студенты имели низкое качество решения как вербальных, так и невербальных задач, кроме того, у них было много неправильных ответов и пропусков сигнала. Анализ качества решения НИР по «Анатомии человека» показал, что «успешные» студенты справлялись с заданием на «отлично» и тратили на работу небольшое количество времени. Студенты «средней» группы затрачивали столько же времени, как и «успешные» студенты, однако при выполнении заданий, они мало читали предложенную литературу. «Неуспешная» группа много времени проводила за выполнением работы, практически не читала учебную литературу. Эффективность работы «успешных» студентов, вероятно, связана с тем, что они используют различные стратегии решения вербальных и невербальных задач. Для решения вербальных задач группа «успешных» студентов активно использует ресурсы задней системы внимания, а при решении образных задач – переднюю систему внимания, что находит отражение и в оптимальном времени решения поставленных задач. Группа «средних» студентов при выполнении вербальных задач использовала аналогичную стратегию решения, как у «успешных» студентов, что приводило к эффективному распознаванию. При решении образных задач эти студенты чаще опирались на ресурсы задней системы внимания, что приводило к некачественному выполнению невербальных задач. Кроме того, группа «средних» студентов «торопилась» при выполнении когнитивных задач. Вероятно, все эти условия приводят к тому, что эффективность деятельности этой группы не достигает высоких результатов и находится на среднем уровне. Неэффективная работа группы «неуспешных» студентов связана с тем, что они не могут выбрать определенную стратегию решения когнитивных задач и пытаются использовать стратегии работы передней и задней системы внимания, что, вероятно, приводит к их конкуренции и в очень длительном времени – решению вербальных и невербальных задач.

Таким образом, успешное решение вербальных задач сопровождается активацией задней системы внимания, а невербальных задач – передней системой внимания. Не соблюдение этих стратегий приводит к ухудшению качества когнитивной деятельности.

# ИНТЕНСИВНОСТЬ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И УРОВЕНЬ ТЕСТОСТЕРОНА И ЭСТРАДИОЛА В СЕМЕННОЙ ЖИДКОСТИ МУЖЧИН С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ПАТОСПЕРМИИ

*А.А. Александрова<sup>1</sup>, Т.А. Шерчкова<sup>3</sup>, К.Г. Савикина<sup>2</sup>, В.Н. Прокофьев<sup>1</sup>,  
Л.В. Гутникова<sup>1</sup>, С.В. Ломтева<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

<sup>2</sup>ООО Центр репродукции человека и ЭКО, 344068, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. Бодрая, 90 «А».

<sup>3</sup>Клинико-диагностическая лаборатория «Наука», Российская Федерация, 344034, г. Ростов-на-Дону, ул. Загорская, 23а

E-mail: aalexandrova@mail.ru

Окислительный стресс, вызванный повышением АФК или снижением уровня антиоксидантов, в семенной плазме играет важную роль в возникновении нарушений параметров спермы.

Обследованы 88 соматически здоровых мужчин, в возрасте от 20 до 50 лет, обратившихся в 2014 году в Центр репродукции человека и ЭКО, города Ростов-на-Дону с проблемой бесплодия в браке и патоспермией в анамнезе. Исследования проведены на автоматическом хемилюминесцентном анализаторе Berthold Autolumat Plus LB 953 (Berthold Technologies, GmbH). Методом иммуноферментного анализа определяли уровень тестостерона и эстрадиола на анализаторе «ALISEI QS» (Италия) ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ.

Исследована интенсивность свободно-радикальных процессов и уровень тестостерона и эстрадиола в семенной жидкости мужчин с нормоспермией, астенозооспермией, олигозооспермией, олигоастенозооспермией, тератозооспермией. При нормоспермии индивидуальные различия в величине импульса светосуммы быстрой вспышки варьировали в пределах 7,4–18,8 (отн. ед. хемилюминесценции); при астенозооспермии у отдельных пациентов значения этого показателя достигали 36,9 (отн. ед. хемилюминесценции); при тератозооспермии до 41,3; олигоастенозооспермии – до 52,1; олигозооспермии – до 56,4 (отн. ед. хемилюминесценции).

Выявлена повышенная способность к генерации активных форм кислорода в семенной жидкости при олигозооспермии. Увеличение уровня тестостерона и эстрадиола в семенной жидкости отмечено при патоспермиях, связанных с уменьшением подвижности сперматозоидов. Положительная корреляция выявлена между интенсивностью свободно-радикальных процессов и увеличением уровня тестостерона при олигозооспермии. При этой патоспермии отмечен высокий уровень корреляции ( $r=0,8$ ) между уровнем тестостерона и эстрадиола в семенной жидкости.

*Исследование выполнено в рамках базовой части государственного задания Министерства образования РФ № 1878 «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».*

---

## СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПРИ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ РАЗНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ

*М.А.М. Аль-Рабиу, Н.К. Кличханов*

Дагестанский государственный университет, 367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Гаджиева, 43а

E-mail: klich-khan@mail.ru

Непреднамеренная (эксидентальная) гипотермия, развивающееся у млекопитающих при действии экстремальных климатогеографических факторов, может привести к негативным эффектам:

сдвигу с глюкозного метаболизма на липидный, иммуносупрессии, смещении баланса в сторону избыточной генерации свободных радикалов и возникновении дефицита антиоксидантов. Установлено, что при кратковременной умеренной гипотермии, происходит активация свободнорадикальных процессов и снижение антиоксидантной защиты эритроцитов, выраженность данных изменений зависит от глубины и длительности гипотермии. Перекисная модификация липидов и белков может оказать существенное влияние на мембрану эритроцита, степень которого можно оценить, изучая структурно-динамическое состояние мембраны.

Структурно-функциональные свойства мембраны эритроцитов оценивали путем анализа собственной флуоресценции белков, а также микровязкости мембраны с помощью флуоресцентного зонда пирена на спектрофлуориметре Hitachi F-7000 (Япония). Гипотермию у крыс вызывали наружным в плексигласовых камерах. Температуру тела снижали от 37 до 30 °С (кратковременная умеренная гипотермия) в течение 30 мин. Достигнутый уровень гипотермии поддерживали в течение 90 и 180 мин (продолжительная гипотермия).

Анализ спектра суммарной флуоресценции показал, что в динамике умеренной гипотермии происходит как существенное снижение интенсивности флуоресценции белков мембран эритроцитов, так и сдвиг пика флуоресценции в коротковолновую область (333 нм → 330 нм). Гипотермия сопровождается также спектральной асимметрией с формированием слабого плеча на  $\lambda = 310$  нм. Анализ вторых производных суммарной флуоресценции белков мембран выявил на спектре основной отрицательный пик на 312 нм. В белках мембран эритроцитов контрольных животных на вторых производных спектра суммарной флуоресценции наряду с основным отрицательным пиком, обнаруживаются еще 3 отрицательных пика на 328, 336, 347 нм, которые соответствуют флуоресценции триптофанилов, имеющих разное окружение. При кратковременной гипотермии в спектре, кроме основного отрицательного пика (321 нм), появляется пик на 330 нм, а остальные пики исчезают. Пролонгирование гипотермии способствует восстановлению отрицательно пика на 347 нм.

При гипотермии обнаружено снижение триптофановой флуоресценции белков мембран эритроцитов, которое тем выше, чем длительнее гипотермия. Снижение триптофановой флуоресценции в динамике гипотермии может быть результатом как конформационных изменений белков, так и окисления триптофановых остатков мембранных белков. На вторых производных спектра триптофановой флуоресценции белков мембран эритроцитов контрольных животных обнаруживаются основной отрицательный пик на 330 и дополнительный на 350 нм, характерные для триптофановой флуоресценции. Кратковременная и 90 мин продолжительная гипотермия приводит к появлению пика на 347 нм, 180 мин продолжительной гипотермии на 354 нм.

Исследование структурных свойств мембран эритроцитов с помощью флуоресцентного зонда пирена свидетельствует о том, что сразу после снижения температуры тела и при дальнейшем пролонгировании гипотермии происходит повышение текучести (или соответствующее снижение микровязкости) липидного бислоя мембран эритроцитов, по сравнению с нормой. После 90 мин гипотермии существенно возрастает текучесть зон белок-липидных контактов (или аннулярных липидов), но через 180 мин гипотермии этот параметр нормализуется. При гипотермии снижается эффективность переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков на пирен. После 180 мин гипотермии эффективность переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков на пирен восстанавливается до контрольного уровня.

При исследованных гипотермических состояниях полярность микроокружения зонда пирена, который диффундирует в области жирнокислотных остатков фосфолипидов как в липидных слоях, так и в области белок-липидных контактов не изменяется.

Поскольку существенные изменения микровязкости происходят в области аннулярных липидов и в эффективности переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков на пирен, рассмотренные данные позволяют считать, что структурные переходы в эритроцитарных мембранах при гипотермии инициируются в большей степени в белках и в меньшей степени в липидах.

Таким образом, при кратковременной умеренной гипотермии, наблюдается нарушение стабильности и структурной организации эритроцитарных мембран, характеризующееся понижением микровязкости липидного бислоя, текучести зон белок-липидных контактов (аннулярных липидов), увеличением уровня структурных перестроек мембранных белков, которые в ряде случаев усиливаются после 90 мин пролонгированной гипотермии. Пролонгирование умеренной гипотермии в течение 180 мин способствует восстановлению структурных параметров мембраны эритроцитов.

---

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ ФЕНИЛЭФРИНА И КЛОНИДИНА НА ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ АРТЕРИИ ПОСЛЕ 30 ДНЕЙ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ

*В.Н. Ананьев*

*Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Российская Федерация, г. Москва,  
Хорошевское ш., 76-а  
E-mail: noradrenalin1952@mail.ru*

Действие холода на организм приводит к активации симпатической нервной системы. Увеличивается концентрация в крови норадреналина и адреналина, которые усиливают термогенез и способствуют сокращению периферических сосудов, уменьшая, таким образом, теплоотдачу. Целью нашего исследования было изучение влияния холодовой адаптации на функциональную активность альфа-1- и альфа-2-адренорецепторов артерий.

Для решения поставленных задач проведены исследования на самцах кроликов (массой 2,5–3,5 кг) под наркозом. Контрольную группу составили кролики, содержащиеся при температуре окружающей среды (+)18–22 °С в течение 30 дней. Холодовое воздействие проводилось ежедневно по 6 ч в охлаждающей камере при температуре (–)10 °С, в остальное время кролики находились при температуре (+)18–22 °С. Исследовали системное давление и сосудистую ответную реакцию препарата кожно-мышечной области задней конечности при перфузии кровью этого же животного с помощью насоса постоянной производительности. Селективные миметики фенилэфрин и клонидин в восьми дозах вводили внутриаартериально перед входом насоса. Изменения перфузионного давления регистрировали электроманометром и записывали на ленте самописца. Одновременно через АЦП регистрировали данные в компьютер. Для анализа ответной реакции сосудистых регионов нами использован графический способ определения параметров взаимодействия медиатор-рецептор в двойных обратных координатах, впервые предложенный Лайниувером и Берком

После 30-дневной холодовой адаптации количество активных  $\alpha_1$ -адренорецепторов уменьшилось с  $P_m=192,3$  мм.рт.ст. в контроле до  $P_m=172,4$  мм.рт.ст., т.е. количество активных рецепторов уменьшилось на 10,3 % ( $p<0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. При этом чувствительность  $\alpha_1$ -адренорецепторов к фенилэфрину не изменилась.

Количество активных  $\alpha_2$ -адренорецепторов после 30-дневной холодовой адаптации увеличилось с  $P_m=270$  в контроле до  $P_m=370$  мм.рт.ст., т.е. количество активных рецепторов увеличилось в 1,37 раза, или возросло на 37 % по сравнению с контрольной группой. При этом чувствительность  $\alpha_2$ -адренорецепторов к клонидину увеличилась с  $1/K=0,03$  в контроле до  $1/K=0,04$  после холода, или возросла в 1,33 раза (+ 33,3 %).

На основании результатов исследований можно сделать заключение, что после 30-дневной холодовой адаптации повышалось количество активных ( $P_m$ )  $\alpha_2$ -адренорецепторов на 37 % ( $p<0,05$ ), увеличилась чувствительность  $\alpha_2$ -адренорецепторов на 33 % ( $p<0,05$ ). Сравнительный

анализ фенилэфрина с клонидином после 30 дней холодовой адаптации показал, что чувствительность  $\alpha 2$ -адренорецепторов к клонидину была в 7,5 раза меньше чувствительности  $\alpha 1$ -адренорецепторов к фенилэфрину. Но зато количество активных  $\alpha 2$ -адренорецепторов к клонидину было в 2,15 раза больше чем количество  $\alpha 1$ -адренорецепторов к фенилэфрину. В результате большей чувствительности ( $1/K$ )  $\alpha 1$ -адренорецепторов к фенилэфрину, чем  $\alpha 2$ -адренорецепторов к клонидину, отмечается большая прессорная реакция фенилэфрина на низкие дозы.

Таким образом, можно сделать вывод, что после 30 дней холодовой адаптации чувствительность к фенилэфрину  $\alpha 1$ -адренорецепторов в 7,5 раз больше чувствительности  $\alpha 2$ -адренорецепторов к клонидину. Чувствительность  $\alpha 1$ -адренорецепторов на 30-й день холодовой адаптации нормализовалась (стала как в контроле), а чувствительность  $\alpha 2$ -адренорецепторов стала на 33 % больше контроля. Количество активных  $\alpha 2$ -адренорецепторов к клонидину на 30-й день холодовой адаптации стало на 37 % больше контроля, а количество  $\alpha 1$ -адренорецепторов к фенилэфрину, наоборот, стало на 10 % меньше контроля.

Проведенные исследования показали, что клонидин усиливает прессорное действие на артерии после холодовой адаптации, а фенилэфрин, наоборот, способствует расширению артерий (по сравнению с контролем) и уменьшает прессорное действие норадреналина исключительно за счет уменьшения количества  $\alpha 1$ -адренорецепторов артерий конечности.

---

## МОЛЕКУЛЯРНО ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНА *ICE1* У ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО В КОНТРОЛЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ХОЛОДУ

А.А. Бурабаев, Б.Д. Сексенбаев, Б.К. Нурмашев, М.М. Есиркепов

Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия, 160000, Республика Казахстан, г. Шымкент, пл. аль-Фараби, 1  
E-mail: [assilbek@mail.ru](mailto:assilbek@mail.ru)

Эволюционный процесс растений позволил выработать эффективный способ ответа на низкотемпературный стресс. Генетическое развитие устойчивости растений к холоду в ответ на стресс является тонким регулируемым механизмом, которым управляют гены *CBF/DREB1*. Гены *CBF* контролируются непосредственно транскрипционными факторами семейства ICE. Все гены регулона *CBF/DREB1* принадлежат гену *INDUCER OF CBF EXPRESSION 1 (ICE1)*. Продукты этого гена приводят к немедленному ответу на стресс либо к адаптации растения. Немедленный ответ этих генов также может привести и к ингибированию роста или клеточной смерти [1].

В данной работе приведены результаты исследования гена холодоустойчивости лекарственного растения – шалфей лекарственный (ШЛ) (*Salvia officinalis*), по устойчивости к холоду. В задачи работы входило исследование уровня экспрессии генов, контролирующих устойчивость к холоду *ICE1*.

В работе использовали пять природных рас *Salvia officinalis*, выращенных в лабораторных условиях по методу гидропоники. Для проведения научно-исследовательских работ провели акклиматизацию двухнедельного растения, помещая его на сутки на 4 °С при постоянном свете 100 мЕ. Биологические образцы для выделения нуклеиновых кислот отбирали через каждый 2 часа.

Физиологический тест на холодоустойчивость проводили по методике Xin Z. et al., [2].

Выделение РНК, синтез первой цепи кДНК и постановку основной реакции ПЦР проводили с помощью коммерческого набора фирмы “Promega” согласно инструкции набора. Для определения наличия и уровня экспрессии генов использовали праймеры: *ICE1* f: 5'-cccattaaaacagctgatca-

ca-3', r: 5'-ccagcaagctagagttgagggtt-3' [3]. Детекцию продуктов амплификации выявляли с помощью 1,5 %-ного агарозного геля.

Проведен анализ по тесту физиологического состояния **шалфея** лекарственного на холодоустойчивость при температуре от 0 до  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Согласно проведенным тестам выживаемость шалфея лекарственного практически приравнялось к нулю. Выживаемость исследуемого растения после проведенных тестов не достигала 7 дней, т.е., по нашим данным, шалфей лекарственный не холодоустойчив, и температура ниже нуля влияет губительно на данное растение.

Проведенные исследования показали, что ген холодоустойчивости *ICE1* в данном растении имеется, и уровень его экспрессии **шалфея** лекарственного наблюдается (рис.).

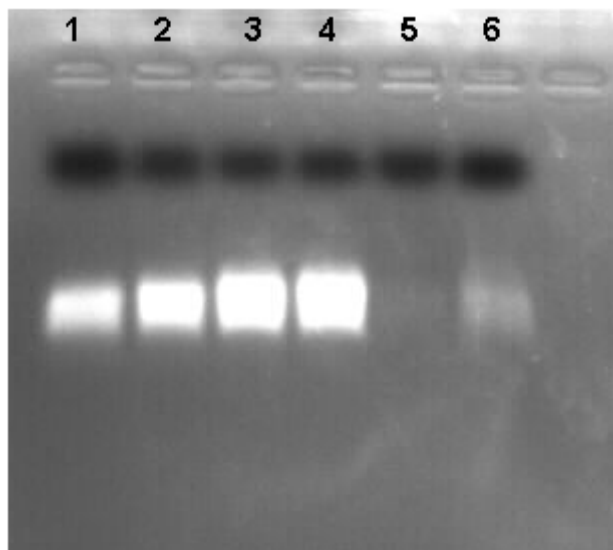


Рис. Результаты ПЦР по гену *ICE1* холодоустойчивости шалфея лекарственного:  
1 – через 2 ч при  $4^{\circ}\text{C}$ ; 2 – через 4 ч при  $4^{\circ}\text{C}$ ; 3 – через 6 ч при  $4^{\circ}\text{C}$ ; 4 – через 8 ч при  $4^{\circ}\text{C}$ ; 5 – при  $30^{\circ}\text{C}$ ;  
6 – при комнатной температуре,  $18^{\circ}\text{C}$

Из полученных результатов следует, что экспрессия гена *ICE1* наблюдается при культивировании при  $4^{\circ}\text{C}$ , результаты экспрессии гена подтверждаются биологическими материалами, полученными через каждые 2 ч. В качестве контрольных образцов **шалфея** лекарственного брали растения, выращенные при  $30^{\circ}\text{C}$  и при комнатной температуре  $18^{\circ}\text{C}$ .

Полученные результаты показывают, что **шалфей** лекарственный имеет ген холодоустойчивости *ICE1*, однако экспрессия данного гена незначительна. Немедленный ответ этого гена на понижения температуры ниже  $0^{\circ}\text{C}$  губительно влияет на **шалфей** лекарственный.

Таким образом, **шалфей** лекарственный является стресс-чувствительным из-за незначительной экспрессии гена *ICE1*. Более важная роль гена в изучаемом процессе требует дополнительных исследований с данным видом растений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Mahajan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: an overview // Arch. Biochem. Biophys. 2005. V ol. 444(2). P. 139–158.
2. Xin Z. and Browse J. Eskimol mutants of Arabidopsis are constitutively freezing-tolerant. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1998. Vol. 95. P. 7799–7804.
3. Зарецкая М.В., Курбидаева А.С., Новокрещенова М.Г., Куприянова Е.В., Ежова Т.А., Федоренко О.М. Генетические основы адаптации: время цветения и устойчивость к холоду у *Arabidopsis Thaliana* (L.). Уфа: Башкирский ГАУ, 2012. С. 59–65.



# ИЗМЕНЕНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ И ЕЕ ЛЕЧЕНИИ

**А.О. Бусленко<sup>1</sup>, Н.Ю. Пшеничная<sup>1</sup>, И.С. Алешукина<sup>2</sup>,  
О.Д. Костенко<sup>2</sup>, С.А. Хуказова<sup>2</sup>, А.В. Алешукина<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Ростовский государственный медицинский университет 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

<sup>2</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>3</sup>Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии, 344000, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Газетный, 119

E-mail: aaleshukina@mail.ru

Ведущее место в этиологической структуре острых кишечных инфекций (ОКИ) в настоящее время занимают ассоциации вирусов и условно-патогенных бактерий. Усугубление течения ОКИ происходит на фоне снижения местной резистентности в кишечнике. Для оценки эффективности разных схем лечения ОКИ используются экспериментальные модели на лабораторных животных.

Цель исследования было изучение влияния разных схем лечения экспериментальной кишечной инфекции на уровень цитокинов в кишечнике.

Экспериментальную модель кишечной инфекции воспроизводили на белых лабораторных мышцах-самцах весом 12–14 г. В качестве основного этиологического использовали штамм *Klebsiella pneumoniae* № 7571. Суточную агаровую культуру в концентрации 1 млрд. м.т. на животное вводили однократно перорально. Наблюдение за экспериментальными животными осуществляли ежедневно. Забор фекалий проводили у каждой особи на 1-е, 3-е, 6-е и 9-е сутки после заражения. Проводили посев микрофлоры по схеме исследования дисбиоза кишечника качественно-количественным методом с использованием дифференциально-диагностических сред («Микроген»). В фильтратах фекалий проверяли наличие ротавирусов («Ампли-сенс») и уровень воспалительных и противовоспалительных цитокинов методом ИФА («БиоХимМак») – ИЛ-1бета, ИЛ-6, ИНФ-гамма, ИЛ-10, ИЛ-4, ФНО-альфа.

Мышей рандомизировали по группам в зависимости от препаратов, входящих в схему лечения:

- 1-я – контрольная – оценивались все показатели при нелеченой кишечной инфекции по уровню клебсиелл и ротавирусов;
- 2-я – опытная, где животные получали аминодигидрофталазиндион натрия;
- 3-я – опытная группа, где животные получали аминодигидрофталазиндион натрия в сочетании с бактериофагом (Пиобактериофаг поливалентный очищенный жидкий «Микроген»);
- 4 – опытная, где животные получали аминодигидрофталазиндион натрия в сочетании с бактериофагом и лактоглобулином (лактоглобулин против условно-патогенных бактерий и сальмонелл ФБУН «Ростов НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора).

Все препараты вводили перорально ежедневно в дозах, рассчитанных на массу животных. Необходимо отметить, что у мышей с помощью ПЦР было выявлено исходное наличие ротавирусов.

В контрольной группе выделение *Klebsiella pneumoniae* количестве  $10^6$ – $10^7$  КОЕ/г фекалий было зафиксировано на 1-е сутки после заражения. У всех мышей этой группы выявлялись ротавирусы. Был повышен уровень ИЛ-1 бета, ИЛ-6, ФНО-альфа и ИНФ-гамма до 6-х суток после начала эксперимента. Затем количество *Klebsiella pneumoniae* снизилось до  $10^4$  КОЕ/г (9-е сутки) и повысился уровень ИЛ-4 и ИЛ-10. Ротавирусы определялись до конца наблюдений.

В группе 2 и 3 количество *Klebsiella pneumoniae* на 1-е сутки после заражения было  $10^6 - 10^7$  КОЕ/г, затем на 3-е сутки снизилось до  $10^3-10^4$  КОЕ/г. На 6-е и 9-е сутки клебсиеллы не были выявлены. На 6-е сутки было отмечено снижение положительных проб на ротавирус. Воспалительные цитокины по сравнению с исходным уровнем на 3-е сутки повысились, однако количество их было ниже, чем в контроле. Повышение противовоспалительных цитокинов на фоне снижения воспалительных цитокинов во 2-й и 3-й группах произошло на 6-е сутки.

В группе 4 по сравнению с контрольной группой было отмечено снижение числа положительных проб на ротавирус на 9-е сутки. «Смена» воспалительных на противовоспалительные цитокины произошла на 6–9-е сутки.

Таким образом, в эксперименте была показана эффективность использования в схемах лечения ОКИ, обусловленного ассоциацией ротавирусов и клебсиелл, препаратов, одновременно обладающих иммуномодулирующей и противовоспалительной активностью.

---

## РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА МИТОХОНДРИАЛЬНО-АДРЕСОВАННЫМ АНТИОКСИДАНТОМ SKQ1 ПРИ ГИПЕРОКСИИ

*В.В. Внуков, Н.П. Милютин, А.А. Ананян,  
А.О. Даниленко, О.И. Гуценко, А.А. Плотников*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии, кафедра биохимии и микробиологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: natmilut@rambler.ru*

В условиях гипероксии наблюдается избыточная продукция активированных кислородных метаболитов (АКМ), среди которых ведущее место принадлежит активным формам кислорода (АФК), азота (АФА) и хлора (АФГ). При гипербарооксигенации (ГБО; 0,5 МПа, 90 мин) наблюдается избыточное образование супероксидного анион-радикала, что подтверждается значительным повышением параметров люцигенин-зависимой хемилюминесценции в плазме крови крыс. Гиперпродукция супероксида при ГБО может быть обусловлена значительной активацией НАДФН-оксидазы, миелопероксидазы и ксантинооксидазы в мононуклеарной фракции крови и мозге на фоне митохондриальной дисфункции. Повышенная продукция при ГБО оксида азота и супероксида способствует существенному возрастанию в плазме крови уровня пероксинитрита ( $\text{ONOO}^-$ ) и нитрозоаддуктов ( $\text{RSNO}_x$ ), образующихся в результате взаимодействия  $\text{NO}^{\bullet}$  с тиолами. Известно, что  $\text{NO}^{\bullet}$  активно вступает в реакции S-нитрозилирования с различными SH-содержащими молекулами – глутатионом, альбумином, гемоглобином – с образованием достаточно стабильных S-нитрозотиолов ( $\text{RSNO}$ ), по содержанию которых можно судить о скорости образования оксида азота в системе. Установлено, что при ГБО содержание нитрозотиолов ( $\text{RSNO}$ ) в плазме крови крыс увеличивается на 40 %. Одновременно при ГБО наблюдается возрастание уровня нитротирозина ( $\text{NO}_{\text{Тир}}$ ), образующегося при взаимодействии тирозина с продуктом распада пероксинитрита диоксидом азота ( $\text{NO}_2^{\bullet}$ ).

Важнейшим акцептором  $\text{NO}^{\bullet}$  в плазме крови является внеэритроцитарный гемоглобин, скорость взаимодействия которого с  $\text{NO}^{\bullet}$  в 800 раз выше, чем гемоглобина, локализованного в эритроцитах. Показано, что при ГБО содержание нитрозилгемоглобина ( $\text{NOHb}$ ) в плазме крови крыс на 40 % превосходит уровень контроля. В условиях ГБО в плазме крови, митохондриальной фракции мозга и печени наблюдается увеличение на 37–54 % содержания конечных продуктов метаболизма  $\text{NO}^{\bullet}$  – нитритов/нитратов ( $\text{NO}_x^-$ ), повышенный уровень которых сохраняется и через 6–12 ч постгипероксического периода.

Избыточная продукция при ГБО супероксида, оксида азота и продуктов миелопероксидазной реакции гипогалогенитов, может способствовать инициации цитотоксических реакций и образованию гидроксильного радикала, обладающего высоким деструктивным потенциалом.

Предварительное применение митохондриально-адресованного антиоксиданта SkQ1 (50 нмоль/кг, 5 дней) перед воздействием ГБО приводит к снижению и в большинстве случаев к нормализации уровня АКМ в плазме крови, митохондриях мозга и печени крыс, что может быть обусловлено нормализацией активности прооксидантных ферментов НАДФН-оксидазы, миелопероксидазы и ксантиноксидоредуктазы в лейкоцитах крови и мозге крыс.

Установлено, что при окислительном стрессе, индуцированном гипероксией, наряду с гиперпродукцией АКМ наблюдается нарушение функционирования ферментативной антиоксидантной системы митохондрий мозга, печени и клеток крови: от чрезмерной активации (СОД, каталаза, глутатион-S-трансфераза) до ингибирования (глутатионредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа). Это приводит к глубокой дисфункции антиоксидантного ферментативного каскада, способствующей повышению интенсивности свободнорадикального окисления (СРО), что создает условия для развития митоптоза и апоптоза клеток крови, мозга и печени. Применение SkQ1 перед воздействием ГБО способствует нормализации состояния антиоксидантной системы в крови и тканях, снижению интенсивности (СРО) и уровня апоптоза в лимфоцитах периферической крови, мозге и печени.

Таким образом, цитопротекторный эффект катионного производного пластохинона SkQ1 при ГБО-индуцированном окислительном стрессе выражается в оптимизации свободно-радикального гомеостаза, повышении мощности антиоксидантной системы и восстановлении динамического равновесия в системе прооксиданты-антиоксиданты, поддержании стационарного уровня апоптоза в тканях крыс.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Базовая часть госзадания № 213.01–11/2014–32).*

---

## **ЭКСПРЕССИЯ ЦИТОХРОМОВ P450 ПОДСЕМЕЙСТВА 1A В ЭКЗОСОМАХ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ ГЕПАТОЦИТАРНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИЕЙ**

***Е.В. Воронцова, А.Ю. Гришанова, В.В. Ляхович***

*Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, 630117, Российская Федерация, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12*

*E-mail: vorontsovaev@gmail.com, agrish@niimbb.ru*

Внеклеточные везикулы, секретируемые различными типами клеток, в последнее время стали объектом пристального внимания. Интерес объясняется возможностью переноса информации от одной клетки к другой на значительные расстояния. Самые мелкие из везикул – экзосомы (до 200 нанометров в диаметре), могут попадать в кровоток и способны преодолевать все биологические барьеры [1].

Гепатоциты, как и большинство клеток, секретируют экзосомы – внеклеточные везикулы, образующиеся внутри клетки, которые, являются очень мелкими. Биохимический состав этих везикул на данный момент практически не изучен, и отсутствуют работы по исследованию ферментов системы биотрансформации ксенобиотиков, выполненных на клеточных линиях человека. Вопрос о возможности включения в состав экзосом ферментов системы биотрансформации ксенобиотиков и их метаболитов в настоящее время открыт. Таким образом, целью данной работы

является оценка ферментов биотрансформации ксенобиотиков в составе экзосом, секретируемых гепатоцитарной клеточной линией человека HepG2.

Экзосомы, секретируемые HepG2 гепатоцитарной клеточной линией человека выделяли по протоколу, описанному в работе [2] путем последовательного центрифугирования. Конечный осадок разводили в 100–200 мкл. лизирующего буфера. Для оценки качества выделенных экзосом был проведен иммуноблотанализ с использованием маркера эндоплазматического ретикулаума белка калнексина. Calnexin представлен в клетках и отсутствует в выделенных фракциях экзосом (рис. 1).

Методом иммуноблотанализа был оценен уровень белка цитохромов P450 подсемейства 1A1 и 1A2 в HepG2 клетках и в экзосомах, секретируемых этими клетками. Показано, что экзосомы, так же, как и HepG2 клетки, имеют в своем составе белок CYP1A1 и CYP1A2. При равном количестве общего белка (15 мкг) в клетках и экзосомах, наносимом на дорожку, содержание CYP1A1 в экзосомах меньше чем в клетках в 5–10 раз и приблизительно одинаковое количество белка CYP1A2 (рис. 2).

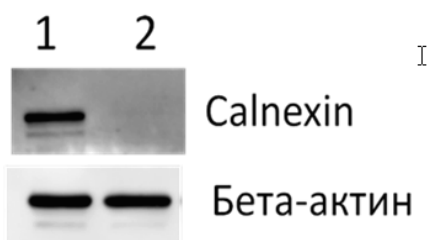


Рис. 1. Оценка качества выделенных экзосом.  
1. Клетки HepG2, 2. Экзосомы выделенные из культуральной среды HepG2 клеток

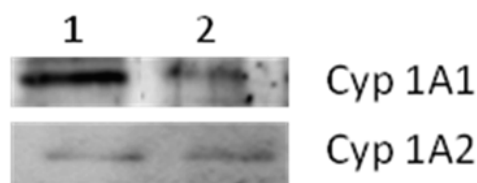


Рис. 2. Экспрессия цитохрома P450 подсемейства 1A в экзосомах, секретируемых HepG2 клеточной линией: 1 – клетки HepG2; 2 – экзосомы, выделенные из культуральной среды HepG2 клеток через 48 часов культивирования

Таким образом, в данном исследовании охарактеризованы экзосомы гепатоцитарной клеточной линии человека HepG2. Впервые продемонстрировано наличие ферментов биотрансформации ксенобиотиков цитохромов P450 1A1 и 1A2 в экзосомах, секретируемых клеточной линией человека, что является важным для понимания функции печени и поиска новых возможностей для идентификации компонентов при различных повреждениях печени.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Cocucci E., Racchetti G., Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more // Trends Cell Biol. 2009. Feb. Vol. 19(2). P. 43–51.
2. Théry C., Amigorena S., Raposo G., Clayton A. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids // Curr. Protoc. Cell Biol. Chapter. 2006. № 3. Unit 3.22

---

## РОЛЬ СЕРОТОНИНА И НЕЙРОПЕПТИДА FMRF-АМИДА В ФОРМИРОВАНИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Л.Н. Гринкевич

Научно-исследовательский институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6  
E-mail: Larisa\_Gr\_spb@mail.ru

Одной из сложнейших задач фундаментальной нейробиологии является выяснение роли эпигенетических (над-генетических) механизмов формирования долговременной памяти и по-

иск путей ее улучшения. Важнейшую роль в эпигенетической регуляции играет модификация гистонов, приводящая к изменению экспрессии генов, вовлекаемых в пластические процессы. В настоящее время наиболее интенсивно изучается ацетилирование и метилирование гистонов, так как показана принципиальная возможность через воздействие на эти процессы влиять на ментальные характеристики, нарушенные в ряде патологий. Важнейшую роль в данных исследованиях сыграли животные с простыми нервными системами, в частности моллюски.

В качестве модели долговременной памяти мы используем выработку рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix*. Было показано, что в формирование данного вида долговременной памяти вовлекается как ацетилирование, так и метилирование гистона H3, причем метилирование индуцируется как по активаторному, так и ингибиторному, сайтам. Предположено, что данные эпигенетические модификации находятся под контролем как активаторных, так и тормозных путей, вовлеченных в формирование долговременной памяти. Следует отметить, что нарушение процессов торможения, связанных с дисфункцией метилирования является одной из причин шизофрении. В настоящее время эти исследования проводятся в ведущих лабораториях мира.

Ключевым активаторным медиатором ЦНС моллюсков в формировании оборонительных рефлексов является модуляторный медиатор серотонин, который опосредует действие ноцицептивных стимулов, а тормозным – нейропептид FMRF-амид (Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>). Инкубация ЦНС с этими веществами моделирует не ассоциативные процессы (сенситизацию и привыкание, соответственно), которые вовлечены в формирование долговременной памяти.

FMRF-амид-подобные пептиды широкого представлены и у позвоночных животных. Они играют важную роль в развитии нервной системы, вовлечены в регуляцию пищевого поведения и боли. Показано, что химерные конструкции, включающие опиоиды и FMRF-амид-подобные пептиды, способны подавлять боль без развития эффектов привыкания и, более того, могут подавлять апоптоз нервных клеток, вызываемый длительным применением опиоидов, что предполагает большой терапевтический потенциал этих конструкций. Однако молекулярные механизмы действия FMRF-амидов остаются в значительной мере не выясненными.

Проведенные нами исследования показали, что введение FMRF-амида в концентрации (1мкг/грамм веса) улучшает формирование долговременной памяти у *Helix*, через усиление избегательного поведения. Учитывая вышесказанное, нами были проведены сравнительные исследования по влиянию серотонина и FMRF-амида на процессы метилирования гистона H3 в функционально различных ганглиях ЦНС *Helix*. Показано, что серотонин и FMRF-амид оказывают реципрокный эффект на метилирование гистона H3 в подглоточном комплексе ганглиев ЦНС *Helix*, специализирующемся на оборонительном поведении. Так, инкубация ЦНС *Helix* с серотонином индуцирует метилирование гистона H3 по активаторным (H3k4me3) и ингибиторным (H3k9me2) сайтам, тогда как инкубация с FMRF-амидом снижает метилирование по обоим сайтам. При совместном действии этих веществ наблюдается подавление FMRF-амидом метилирования, индуцируемого серотонином. Способность FMRF-амида оказывать противоположный серотонину эффект на метилирование гистона H3 может отражать роль FMRF-амида в целостном поведении животного, а именно в торможении стимулов, утративших значимость. Учитывая данные о том, что FMRF-амиды способны предотвращать клеточную гибель, участие этих пептидов в формировании рефлексов, связанных с применением болевых стимулов, представляется необычайно важным. Таким образом, изучение влияния FMRF-амидов на эпигенетические процессы представляет широкий интерес не только в связи с формированием долговременной памяти, но и в целом с функционированием ЦНС.

Полученные данные свидетельствуют о том, что активаторные и ингибиторные процессы, опосредуемые серотонином и FMRF-амидом, могут взаимодействовать на эпигенетическом уровне через метилирование гистона H3, активируя или ингибируя метилирование, соответственно. Данный процесс может лежать в основе конвергенции активаторных и тормозных путей, вовлекаемых в формирование долговременной памяти с дальнейшей регуляцией экспрессии генов, вовлекаемых в пластические перестройки. Путем воздействия на тормозные процессы через введение FMRF-амида возможно влиять на формирование долговременной памяти с целью ее улучшения.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01681*

# ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА УРОВЕНЬ СИНТЕЗА ЧАСОВЫХ БЕЛКОВ BMAL1 И CLOCK В ОПУХОЛЯХ КОЖИ У МЫШЕЙ SHR

*Е.А. Губарева<sup>1</sup>, М.А. Майдин<sup>1</sup>, А.В. Панченко<sup>1</sup>, И.А. Виноградова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава РФ, 197758, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68

<sup>2</sup>Петрозаводский государственный университет, 185910, Российская Федерация, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33

E-mail: [gubareva1984@gmail.com](mailto:gubareva1984@gmail.com); [ando\\_pan@mail.ru](mailto:ando_pan@mail.ru); [mikhail.maidin@pharminnotech.com](mailto:mikhail.maidin@pharminnotech.com); [iri89569627@yandex.ru](mailto:iri89569627@yandex.ru)

Сменная работа, вызывающая нарушение суточных ритмов, а также световое загрязнение, которому подвергается население городов, оказывают промотирующий эффект на развитие опухолей различных локализаций. Нарушение суточных ритмов ведет к десинхронизации ритмов периферических тканей, за поддержание которых на клеточном уровне отвечает система часовых генов и белков, в число которых входят CLOCK и BMAL1. Известно, что экспрессия часовых генов изменяется при канцерогенезе. Влияние постоянного освещения на экспрессию часовых генов в опухолях и нормальных периферических тканях остается малоизученным.

Целью исследования было изучение влияния постоянного освещения на уровень синтеза часовых белков CLOCK и BMAL1 в нормальной и опухолевой ткани на модели двухстадийного канцерогенеза кожи.

В опытах использовали мышей-самцов SHR в возрасте 14 месяцев (420 суток), на протяжении которых животных содержали в стандартных условиях освещения (12 часов свет: 12 часов темнота). Затем животных разделили на три группы (0-е сутки опыта). Первую группу (контроль) и вторую (LD) поместили в условиях 12-часовой смены дня и ночи, третью (LL) – в условия постоянного освещения. На 0-е сутки опыта животным депилировали волосы на участке спине и в течение 2 недель наносили инициатор – диметилбензантрацен (ДМБА), затем наносили опухолевый промотор – 12-0-тетра-деканойлфорбол-13-ацетат (ТФА) до конца эксперимента (127-е сутки). Контрольным животным из первой группы наносили только ацетон. Всех павших и подвергнутых в конце опыта эвтаназии животных подвергали аутопсии, кожу зоны аппликации и основные органы фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине, после гистологической проводки изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, окрашенные гематоксилином-эозином. Выявленные новообразования классифицировали согласно рекомендациям МАИР. Для анализа экспрессии белков CLOCK и BMAL1 отобрали по 10 образцов кожи с папилломами из каждой группы и 10 образцов кожи от животных контрольной группы. Изучаемые белки выявляли методом иммуногистохимии с помощью поликлональных кроличьих антител. На микрофотографиях опухолевой и нормальной ткани подсчитывали процент позитивно окрашенных ядер (ПЯ) в базальном слое кожи и папиллом в программе ImageJ (NIH, США). Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия Манна-Уитни (U) и t-критерия Стьюдента с помощью программы MS Excel 2013 и пакета Real Statistics Resource Pack. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Частота эффективных животных с опухолями кожи составила 13 (59 %) в группе LD и 16 (89 %) в группе LL ( $p=0,038$ , по сравнению с LD), без опухолей, соответственно – 9 (41 %) и 2 (11 %). В контрольной группе опухолей кожи выявлено не было ( $n=10$ ). Среди опухолей кожи наиболее часто встречались папилломы, в нескольких случаях – плоскоклеточный рак. Среднее количество и размеры выявленных новообразований между группами не отличались. Статистически значимое различие в количестве ядер, экспрессирующих CLOCK, в опухолях (Op) и коже с места аппликации канцерогена (K) было выявлено в группе LL ( $K=53,0\pm 12,2$ ,  $Op=62,8\pm 8,12$ ,  $p=0,042$ ), но не в группе LD ( $K=48,0\pm 10,61$ ,  $Op=44,1\pm 13,02$ ,  $p=0,34$ ). Процент ПЯ достоверно от-

личался в опухолях при разном режиме освещения (ОпLL=44,1±13,02, ОпLD=62,8±8,12  $p=0,0016$ ). В отношении белка VMAL1 были получены статистически значимые отличия ПЯ в коже животных контрольной группы (78,96±5,72) и коже с зоны аппликации канцерогена от животных группы LD (62,25±8,05,  $p=0,00006$ ) и LL (69,4±6,62,  $p=0,0085$ ), тогда как между группами LD и LL не было выявлено достоверного отличия. В опухолях животных из группы LL ПЯ (72,7±6,1) был выше, чем в LD (65,3±8,65,  $p=0,054$ ).

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Постоянное освещение стимулирует канцерогенез кожи, вызванный ДМБА и ТФА.
2. Воздействие на кожу ДМБА и ТФА существенно изменяет уровень синтеза часового белка VMAL1.

3. В условиях постоянного освещения уровень синтеза белка CLOCK в опухолях кожи возрастает по сравнению с кожей и с опухолями кожи животных при стандартном освещении.

---

## **ЭКСПРЕССИЯ СИГНАЛЬНЫХ И НЕЙРОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ В ПЕНУМБРЕ ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ФОТОТРОМБОТИЧЕСКОГО ИНФАРКТА КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС**

*С.В. Демьяненко, А.Б. Узденский*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail demyanenkosvetlana@gmail.com*

При инсульте быстро, за минуты, развивается локальный некроз, который невозможно предотвратить. Более медленное распространение повреждения (часы) приводит к формированию переходной зоны – пенумбры. Задача неврологов – защитить клетки пенумбры и ограничить поражение мозга. Для изучения биохимических процессов в пенумбре мы использовали модель фототромботического инфаркта (ФТИ) мозга с расширенной областью пенумбры, которая позволяет исследовать повреждения коры мозга при закупорке мелких сосудов. ФТИ вызывали лазерным облучением сенсомоторной коры мозга (532 нм, 60 мВт/см<sup>2</sup>, диаметр луча 3 мм) после внутривенного введения гидрофильного фотосенсибилизатора бенгальского розового, который не пересекает гематоэнцефалический барьер и остается в кровяном русле.

Гистологическое исследование показало, что при данных параметрах облучения зона инфаркта окружена пенумброй шириной около 1,5 мм. Через 1 и 4 часа после ФТИ в ядре инфаркта развивались отек, вакуолизация ткани, набухание внутриклеточных органелл и разрушение синапсов. В пенумбре происходили сходные, но менее выраженные морфологические изменения, градуально уменьшающиеся на периферии.

Изменение экспрессии более 500 сигнальных и нейрональных белков в пенумбре относительно контрольного участка в контралатеральной коре оценивали с помощью микрочипов Panorama Antibody – Neurobiology и Panorama Antibody – Cell Signaling (Sigma-Aldrich) через 4 и 24 часа после облучения. Для валидации результатов протеомного исследования проведена оценка экспрессии некоторых белков методами иммуногистохимии и Вестерн-блот анализа. Было показано изменение экспрессии ряда белков, участвующих в регуляции экзоцитоза (MUNC-18–3, синтаксина, синфилин-1, синаптотагмин, синаптофизин, SNAP-25); контроле апоптоза, качества митохондрий и митофагии (PAR4, SMAC/DIABLO, каспазы 3, 4, 6 и 11, GADD 153, PINK1, Паркин, убиквитин С-терминальная гидролаза L1); в регуляции нейромедиаторного баланса (MAO-B, триптофан- и тирозингидроксилазы, дофаминдекарбоксилаза, транспортер дофамина,

глутаматдекарбоксилаза, NMDA рецептор 2а типа), а также белков MAP киназных сигнальных путей и Wnt/ $\beta$ -катениновой сигнализации.

Изменения экспрессии нейрональных и сигнальных белков были связаны как с развитием защитных механизмов в ткани мозга, так и с развивающимися процессами повреждения. Некоторые из этих белков, в принципе, могут служить потенциальными маркерами или мишенями для диагностики инсульта и его лечения.

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 14–15–00068. Работа А.Б. Узденского поддержана грантом Минобразования России (Организация НИР № 790).*

---

## **РОЛЬ АКТИВАЦИИ ПРОТЕОЛИЗА В РАЗВИТИИ ОРГАНОПАТОЛОГИИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСЛОЖНЕННОГО РЕПЕРFUЗИОННОГО СИНДРОМА У КРЫС**

***А.А. Жукова, А.В. Кубышкин, В.З. Харченко,  
С.А. Кутя, С.Н. Смирнова, О.И. Лященко***

*Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295006, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7*

*E-mail: anna\_crimea09@mail.ru*

В результате техногенных аварий, военных конфликтов, природных катастроф резко возрастает количество пострадавших с комбинированными поражениями, в том числе компрессионной травмы с острой кровопотерей. При восстановлении в сдавленных тканях кровообращения возникает реперфузионный синдром, характеризующийся тяжелым течением, развитием осложнений и летальностью, достигающей по разным источникам 30–70 %. Ишемия тканей с последующей реперфузией вызывает нарушения микроциркуляции в тканях и органах, что обуславливает развитие полиорганной недостаточности, являющейся основной причиной летального исхода пострадавших. Острая кровопотеря вызывает снижение оксигенации тканей, способствуя их ишемии и усугубляет протекание реперфузионного синдрома. Также восстановление кровообращения включает целый ряд гуморальных механизмов, вызывающих повреждение органов и систем. Одним из таких механизмов является избыточная активация протеолиза, которая приводит к активации многих биологически активных веществ и усилению нарушения гемодинамики.

В связи с этим целью нашей работы явилось изучение состояния протеиназ-ингибиторной системы на системном и местном уровнях и выявление ее роли в повреждении тканей печени и почек при развитии реперфузионного синдрома, осложненного кровопотерей. Экспериментальные исследования проведены на 36 белых крысах массой 180–200 грамм. Острую кровопотерю моделировали путем забора крови из хвостовой вены в количестве 10 % от ОЦК. Реперфузионный синдром моделировали путем реваскуляризации ранее ишемизированных конечностей через 6 часов после наложения жгутов. Эвтаназию животных проводили через 12 ч после снятия жгутов.

В ходе исследований были изучены уровни неспецифических протеиназ (трипсиноподобная, эластазоподобная активности) и их ингибиторов (антитриптическая активность, кислотостабильные ингибиторы) в сыворотке крови и супернатантах гомогенатов печени и почек, проведены гистологические исследования тканей печени и почек. Моделирование реперфузионного синдрома, осложненного кровопотерей сопровождалось ростом трипсиноподобной активности сыворотки крови на 67,5 % (<0,001) по сравнению с группой интактных крыс, выраженным подъемом уров-



ня данного показателя в супернатантах гомогенатов печени экспериментальных крыс более, чем в 2 раза по сравнению с аналогичным показателем группы здоровых крыс и незначительным ростом данного показателя в супернатантах гомогенатов печени. Активация протеолитической активности, как в сыворотке крови, так и в супернатантах гомогенатов органов, сопровождалась падением уровней их ингибиторов. Было отмечено снижение антитриптической активности сыворотки крови на 64,9 % ( $<0,001$ ), количества кислотостабильных ингибиторов на 49,3 % ( $<0,001$ ) по сравнению с показателями интактных животных. Снижение уровней данных показателей в сыворотке крови сопровождалось аналогичными изменениями изучаемых показателей в супернатантах печени и почек. Полученные результаты согласовываются с результатами гистологических исследований тканей печени и почки. При этом активация протеолиза на местном и системном уровнях сопровождалась дистрофическими и дисциркуляторными расстройствами тканей изучаемых органов.

Таким образом, моделирование реперфузионного синдрома, осложненного кровопотерей, сопровождается развитием дисбаланса протеиназ-ингибиторной системы, который является мощным повреждающим фактором, вызывая активацию деструктивных процессов, приводящих к разрушению белков, выполняющих структурные и транспортные функции, способствующих нарушению целостности клеточных мембран, их деструкции и гибели клеток и развитию органопатологии.

---

## **ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОЗИЦИИ R2 РЕТРОТРАНСПОЗОНА РЫЖЕГО ТАРАКАНА В ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЯХ ДРОЗОФИЛЫ**

*А.С. Загоскина, Е.Н. Козлов, М.В. Каракозова, Е.У. Мартынова, Д.В. Муха*

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Губкина, 3  
E-mail: dmitryVmukha@gmail.com*

R2 ретротранспозоны являются сайт-специфичными non-LTR ретротранспозонами, транспозиции которых происходят в пределах генов 28S рибосомной РНК. Показано, что во время транспозиций этого типа мобильных элементов может происходить интеграция как полноразмерных, так и 5'-укороченных копий. Механизм транспозиций R2 ретротранспозонов во многом остается непознанным.

Во-первых, остается неясным, каким образом происходит трансляция белков этих мобильных элементов (МЭ). Известно, что транскрипция R2 ретротранспозонов происходит в составе рибосомальной ДНК за счет активности РНК-полимеразы I. По-видимому, эти транскрипты служат матрицей для обратной транскриптазы, ответственной за синтез кДНК копий R2 ретротранспозонов, интегрируемых в геном. В тоже время известно, что транскрипты, сформированные посредством активности РНК-полимеразы I, не имеют CAP-подобных структур, необходимых для прикрепления РНК к рибосоме и, следовательно, не могут транслироваться, согласно молекулярным механизмам, обеспечивающим трансляцию РНК, соответствующих генам большинства клеточных белков.

Во-вторых, остается неясным, какова роль фланкирующих место интеграции последовательностей рибосомальной ДНК. В рамках нашего недавнего исследования [1] было показано, что эндонуклеазный домен белков, соответствующих ORF R2 ретротранспозонов, имеет значительное сходство с резолвазами архей. На основании этого наблюдения был предложен новый механизм

транспозиции R2 ретротранспозонов, предполагающий формирование структур Холлидея. Кроме того, предполагается, что особое значение в реализации предложенного механизма имеет формирование РНК/ДНК гибридов (R-loops), соответствующих нуклеотидным последовательностям, фланкирующим сайт интеграции МЭ.

В-третьих, остается неясным, благодаря каким молекулярным механизмам происходит образование 5'-укороченных копий R2 ретротранспозонов. В настоящее время обсуждаются два возможных механизма формирования 5'-укороченных копий: 1) случайное «соскакивание» обратной транскриптазы с матрицы РНК МЭ и 2) формирование несовершенных РНК/ДНК гибридов между фланкирующими место интеграции последовательностями рДНК и участками РНК, соответствующих «телу» МЭ.

Для поиска ответов на комплекс сформулированных выше вопросов нами была создана модельная система, позволяющая индуцировать перемещения R2 ретротранспозонов и, кроме того, экспериментально менять структуру перемещающихся МЭ. Суть модели заключается в получении трансгенных линий дрозофилы, содержащих в своем геноме различные структурные элементы экзогенного МЭ (R2 non-LTR ретротранспозон рыжего таракана), и дальнейшем анализе результатов транспозиции этого МЭ в гетерологичной системе.

К настоящему времени нами получена трансгенная линия дрозофилы, содержащая в X-хромосоме сайт посадки R2 ретротранспозона рыжего таракана; в левом плече 2-й хромосомы ORF исследуемого R2 ретротранспозона; и в правом плече 2-й хромосомы – полноразмерный R2 ретротранспозон. Экспрессия описанных структурных элементов и полноразмерной копии R2 ретротранспозона рыжего таракана в полученной нами трансгенной линии дрозофилы обуславливается посредством бинарной экспрессионной системы GAL4-UAS [2], т.е. экспрессия может быть индуцирована в определенной ткани на определенной стадии развития.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Mukha D.V., Pasyukova E.G., Kapelinskaya T.V., Kagramanova A.S. Endonuclease domain of the Drosophila melanogaster R2 non-LTR retrotransposon and related retroelements: a new model for transposition // Front Genet. 2013. № 4. P. 63. doi: 10.3389/fgene.2013.00063
2. Duffy J.B. GAL4 System in Drosophila: a fly geneticist's swiss army knife // Genesis 2002. Vol. 34. P. 1–15.

*Работа выполнена при финансовой поддержке фонда РФФИ (грант № 14-04-01452a) и Программы Президиума РАН «Динамика генофондов».*

---

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВИДЕТЕЛЬСТВА ВОВЛЕЧЕННОСТИ ТИМУСА В ИММУННЫЙ ОТВЕТ

***М.Д. Зассеева<sup>1</sup>, О.В. Гурова<sup>1</sup>, А.Д. Харазова<sup>1</sup>, А.В. Полевищikov<sup>1,2</sup>***

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, 690950, Российская Федерация, г. Владивосток, ул. Суханова, 8

E-mail: maya-zass@mail.ru; olga.guro@gmail.com; akharazova@gmail.com; ALEXPOL512@yandex.ru

Тимус – центральный орган иммунной системы позвоночных – является предметом интенсивных исследований в области иммунологии, физиологии и гистологии на протяжении последних 60 лет. Пик интереса к организации и функционированию тимуса приходится на 1950–1960-е гг., когда была установлена его роль в созревании и дифференцировке части лимфоидных клеток, получивших название Т-лимфоцитов. Результатом исследований последних 30 лет стала гипо-

теза функционирования тимуса как исключительно центрального органа иммунной системы, обеспечивающего созревание и дифференцировку Т-лимфоцитов (молекулярно-биологические аспекты этого процесса являются предметом интенсивных исследований и с настоящее время), но не связанного с процессом иммунного ответа. Тем не менее, ряд экспериментальных наблюдений указывал на существенные изменения морфологии тимуса в ходе иммунного ответа, но остался полностью без внимания в силу принципиального расхождения с наиболее распространенной гипотезой. Более того, соотнесение результатов, полученных с использованием методов молекулярной биологии, проточной цитометрии и иммунологии с результатами морфологических исследований является одной из актуальнейших задач. Целью данной работы была динамическая оценка морфологических изменений в тимусе после иммунизации, оценка динамики относительной плотности тимоцитов в корковом и мозговом веществе тимуса и числа митозов после нее.

В работе использовали самок белых нелинейных мышей и мышей линии СВА обоего пола массой тела в среднем 20 г и возрастом 6–8 недель. Для изучения морфологии тимуса после иммунизации животным внутрибрюшинно вводили 10 %-ную суспензию эритроцитов человека (ЭЧ) в физиологическом растворе по 0,5 мл на мышшь. Вскрытие животных и извлечение тимуса проводили от 1 до 13 суток после иммунизации. В других экспериментах иммунизации предшествовало внутрибрюшинное введение 1 мл 1 %-ного раствора низкоиммуногенного высокомолекулярного декстрана (MW=60000–90000) за 48 ч до иммунизации ЭЧ. Для фиксации образцов после извлечения использовали модифицированную смесь – этиловый спирт–формалин–уксусная кислота. После заливки в парафин готовили гистологические срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином или толуидиновым синим. Препараты микроскопировали на микроскопах Leica DM 6000B в режиме BattleField, фотографировали на камеру Leica DFC500 для подсчета клеточности кортекса и медуллы и числа митозов. Для верификации клеточной пролиферации в тимусе проводили иммуногистохимическое исследование препаратов с использованием кроличьих поликлональных антител к гистону H3. Меченые клетки выявляли с помощью раствора диаминобензидина. Подсчет клеток на участке препарата площадью 10 000 мкм<sup>2</sup> производили при помощи лицензионного программного обеспечения «ImageJ» 1.48d.

После иммунизации ЭЧ в кортикальной зоне отмечается большое число митотических фигур, которые лишь изредка наблюдаются в медулле. Согласно результатам количественного исследования уровня митозов в кортикальной зоне тимуса на разных сроках после иммунизации и при сравнении полученных данных со значением в интактной группе оказалось, что уровень митозов повышается в 2 раза после введения антигена, что указывает на индукцию определенных изменений после иммунизации. Этот результат существенно отличается от литературных данных, поскольку, согласно общепринятым представлениям, тимус является центральным органом иммунной системы, который защищен от внешних воздействий и, следовательно, не вовлечен в процесс иммунного ответа, поэтому он не должен реагировать на введение антигена. Максимальное число лимфоцитов на 10 000 мкм<sup>2</sup> в кортексе отмечено на точках 48 и 72 ч после иммунизации, в медулле – на точке 48 ч. На максимуме отмечено повышение содержания лимфоцитов в корковом веществе в 2,26 раза, в мозговом веществе – в 2,36 раза. Даже через 13 сут после иммунизации плотность клеток, как в кортексе, так и в медулле, достоверно превышает показатели для интактных животных (точка 0 ч). Предварительное введение декстрана, вызывающее накопление в брюшной полости активированных макрофагов, приводило к усилению амплитуды прироста клеточности кортекса (до 3 раз) и сокращению сроков его развития (24 ч вместо 48 ч без декстрана), а также удвоению числа митотических фигур в кортексе. Аналогичные результаты, а также расширение зоны пролиферирующих клеток на весь кортекс, показало использование иммуногистохимического выявления пролиферирующих клеток с использованием антител к гистону H3.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы № 1326 и гранта 14–08–06–25\_и Дальневосточного федерального университета и гранта РФФИ № 15–04–05093а.*

# ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ПОТЕНЦИИ ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗРЕЛЫХ КЛЕТОК СЕРТОЛИ

*С.Т. Захидов<sup>1</sup>, Н.М. Муджири<sup>1,2</sup>, И.В. Макарова<sup>3</sup>, Л.Е. Андреева<sup>3</sup>, Т.Л. Маршак<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 117334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26

<sup>3</sup>Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Акад. Курчатова, 2

E-mail: mudzhirinm@gmail.com

Считалось, что, подобно нейронам и кардиомиоцитам, клетки Сертоли (КС) представляют собой стабильную высокодифференцированную клеточную популяцию, лежащую вне рамок митотических событий. Однако целый ряд современных исследований с большой очевидностью показал, что отнесение функционально зрелых КС к разряду терминально дифференцированных клеток, оправдано только формально. В критических ситуациях «взрослые» КС способны переходить из состояния квазипокоя к активной пролиферации.

Впервые примеры перехода высокодифференцированных КС к пролиферации и делениям в семенниках половозрелых мышей и крыс были продемонстрированы нами в мутационных экспериментах с использованием цитогенетических методов [1]. Дальнейшие эксперименты, в том числе с использованием метода радиоавтографии (<sup>3</sup>H-тимидин), подтвердили, что в гонадах мутагенизированных дипином мышей-гибридов СВА/С57В16, а также ускоренно стареющих мышей линии SAMP1 (senescence-accelerated mouse prone) «взрослые» КС пролиферируют и делятся.

Недавно при изучении сперматогенеза у мышей линии 129/IMG, мутантных по гену ДНК-полимеразы йота, как в контроле, так и после мутагенного воздействия в популяции КС были обнаружены тетраплоидные по содержанию ДНК ядра. Кроме того, в семенниках мутантных химически мутагенизированных мышей линии 129/IMG наблюдалось резкое увеличение общего числа КС – более чем в 3 раза по сравнению с нормой. Среди этих КС были обнаружены клетки с микроядерными абберациями, остаточными хромосомными мостами, протрузиями разных размеров, некоторые из которых содержали глыбки околядрышкового хроматина, а также посттелофазные ядра, клетки с гигантскими ядрами, двуядерные клетки.

Обычно в дифференцированных, неделящихся клетках все эти цитогенетические аномалии проявляют себя лишь при условии ликвидации состояния митотического покоя. Чаще всего переход КС из состояния квазипокоя к пролиферации в условиях потери ими оптимального состояния не сопровождался полной потерей их дифференцировочного статуса. Они сохраняли сходство с нормальными нативными КС; стиралась лишь грань, связанная с торможением клеточных делений.

На основании сделанных нами наблюдений и имеющихся в литературе данных, выдвинуто предположение, что потенциальные механизмы, лежащие в основе перехода высокодифференцированных, функционально зрелых КС к дедифференцировке, ограничены пролиферацией и размножением. Терминальная организация КС при этом не претерпевает сколько-нибудь выраженной морфологической перестройки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Захидов С.Т., Маршак Т.Л., Голиченков В.А. Возможность перехода высокодифференцированных клеток Сертоли к пролиферации после действия химических мутагенов // ДАН. 1995. Т. 344. С. 692–694.

# ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ОККЛЮЗИИ СОННЫХ АРТЕРИЙ

*Ж.Г. Исмаилова, М.Д. Астаева*

*Дагестанский государственный университет, 367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Батырая, 4А*

*E-mail: jamilja@mail.ru*

Изучение сосудистых заболеваний нервной системы, в частности ишемического инсульта, остается одной из важных проблем современной медицины, что обусловлено частой заболеваемостью, стойкой утратой трудоспособности и высокой смертностью больных. Механизмы повреждающего действия свободно-радикальных процессов при ишемии/реперфузии остаются по сей день недостаточно исследованными.

Активация свободнорадикальных процессов при ишемии мозга приводит к развитию оксидантного стресса, являющегося одним из универсальных механизмов повреждения тканей. В связи с этим представляет интерес исследование процессов свободнорадикального окисления.

Целью данной работы является исследование свободнорадикальных процессов в крови при ишемии/реперфузии головного мозга крыс. Нами было исследовано содержание малонового диальдегида (МДА) как продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови при окклюзии сонных артерий.

Окклюзия сонных артерий приводит к расстройству мозгового кровообращения. Ишемия является одной из наиболее частых причин нарушения структуры и функции головного мозга. Окклюзия сонных артерий в течение 60 мин приводит к повышению накопления МДА в плазме крови на 52,7 % относительно контроля. Повышение уровня МДА может быть обусловлено либо увеличением скорости образования, либо снижением скорости утилизации МДА в крови.

В период реперфузии содержание МДА возрастает на 102,5 %. Наши данные об интенсификации процессов ПОЛ в крови согласуются с литературными данными об усилении перекисидации липидов в мозге. Показано, что в процессе реперфузии предварительно ишемизированного мозга прогрессировали интенсификация ПОЛ и избыточное накопление высокотоксичного продукта МДА.

Возможно, обнаруженное нами накопление в крови МДА после ишемии/реперфузии объясняется возможностью вымывания продуктов ПОЛ из ишемизированного органа, которая основана на лучшей растворимости продуктов ПОЛ в водных растворах, чем их неокисленных предшественников.

---

## ВЛИЯНИЕ КОРТЕКСИНА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ (В МОДЕЛИ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ *IN VITRO*)

*Г.В. Карантыш<sup>1,2</sup>, В.Н. Прокофьев<sup>2</sup>, А.М. Менджерский<sup>1</sup>, М.П. Фоменко<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*<sup>2</sup>Южный федеральный университет, Научно-исследовательский институт биологии, 344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*E-mail: karantyshgv@mail.ru; niib2@mail.ru; ammendzherickiy@sfnu.ru; domovoi1232@gmail.com*

Дисбаланс формирования активных форм кислорода и функционирования антиоксидантной системы защиты играют значительную роль в нарушениях углеводного обмена [1–2]. Целью данного исследования явилось изучение влияния кортексина в разных дозировках на показатели

свободнорадикальных процессов в крови больных сахарным диабетом при воздействии на цельную кровь гипербарической оксигенации *in vitro*.

Забор крови у больных сахарным диабетом проводили утром натощак. Показатели СРП исследовали в крови у пациентов с уровнем HbA1 4,2–6,1 (1-я группа) и HbA1 6,2–12,0 (2-я группа). Уровень HbA1 определяли на анализаторе DS5 Glycomat. Проводили три серии экспериментов в цельной крови, которую инкубировали при температуре 4 °С: 1 – контроль – к 0,9 мл цельной крови добавляли 100 мкл физиологического раствора (ФР); 2 – к 0,9 мл цельной крови добавляли 100 мкл ФР и помещали в барокамеру, где в течение 90 мин. подвергали воздействию 0,7 МПа чистого медицинского O<sub>2</sub>; 3 – к 0,9 мл цельной крови добавляли 100 мкл ФР, содержащего кортексин в конечной концентрации 10, 20 или 100 нг/мл крови, и помещали в барокамеру, где в течение 90 мин. подвергали воздействию 0,7 МПа чистого медицинского O<sub>2</sub>. По завершении инкубации пробы крови центрифугировали 10 мин при 3000 об./мин. и отбирали плазму для определения уровня внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ, г/л) с использованием тест-набора Био-тест (PLIVA-Lachema Diagnostika), суммарной пероксидазной активности (СПА, ус.ед.) бензидиновым методом, показателей хемилюминисценции (ХЛ). Оценку H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированной люминол-зависимой ХЛ осуществляли в течение 10 с. На анализаторе AutoLuman Plus LB 953 фирмы Berhold Technologies (Германия). Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 6.5.

Согласно полученным результатам, у пациентов с разным уровнем HbA1 в крови исследованные показатели свободнорадикальных процессов достоверно не различались. В модели гипербарической оксигенации (ГБО) в крови больных с уровнем HbA1 4,2–6,1 наблюдали повышение уровня ВЭГ на 29 % ( $p<0,05$ ). Также у данной группы пациентов в модельном эксперименте ГБО и при добавлении кортексина в конечной концентрации 10 или 20 нг/мл крови установлено еще более выраженное увеличение содержания ВЭГ (табл.), соответственно, на 56 ( $p<0,05$ ) и 73 % ( $p<0,05$ ). В то же время в крови пациентов с уровнем HbA1 6,2–12,0 наблюдали снижение уровня внеэритроцитарного гемоглобина в модельных экспериментах ГБО и при добавлении кортексина в конечной концентрации 10, 20 или 100 нг/мл крови от 21 до 25 % ( $p<0,05$ ).

Таблица

**Показатели свободнорадикальных процессов в крови больных, инкубированной с кортексином**

Уровень HbA1	Модели эксперимента	Показатели свободнорадикальных процессов			
		ВЭГ	СПА	<i>H</i> , с	<i>Sm</i> , 10 с ×10 <sup>4</sup>
4,2–6,1	Физ.р-р (контроль)	0,055±0,002	0,312±0,02	0,72±0,03	164,06±8,35
	ГБО	0,071±0,003*	0,320±0,02	0,61±0,03	177,17±7,38
	К 10 нг+ГБО	0,086±0,004*	0,284±0,01	0,63±0,02	183,15±8,41
	К 20 нг+ГБО	0,095±0,005*	0,291±0,01	0,56±0,02*	174,34±8,22
	К 100 нг+ГБО	0,064±0,002	0,301±0,02	0,54±0,03*	203,24±9,65*
6,2–12,0	Физ.р-р (контроль)	0,056±0,003	0,237±0,01	0,62±0,03	181,32±8,95
	ГБО	0,045±0,002	0,186±0,008*	0,64±0,02	128,63±6,21*
	К 10 нг+ГБО	0,042±0,002*	0,189±0,009*	0,61±0,03	125,44±6,18*
	К 20 нг+ГБО	0,044±0,002*	0,182±0,007*	0,57±0,02	131,59±6,72*
	К 100 нг+ГБО	0,043±0,001*	0,172±0,006*	0,58±0,02	128,25±5,73*

\* – достоверные ( $p<0,05$ ) отличия показателей относительно контрольных значений (физ. р-р).

Также в крови больных с уровнем HbA1 6,2–12,0 установлено понижение СПА в модельных экспериментах ГБО на 27 % ( $p<0,05$ ), а также ГБО и при добавлении кортексина в конечной концентрации 10, 20 или 100 нг/мл крови, соответственно, на 25 ( $p<0,05$ ), 30 ( $p<0,05$ ) и 38 %

( $p < 0,05$ ). Высота быстрой вспышки была снижена в крови пациентов с уровнем HbA1 4,2–6,1 при ГБО и введении кортексина в конечной концентрации 20 или 100 нг/мл на 22 ( $p < 0,05$ ) и 25 % ( $p < 0,05$ ), однако при ГБО и введении кортексина в концентрации 100 нг/мл крови с уровнем HbA1 4,2–6,1 выявлено возрастание светосуммы на 24 % ( $p < 0,05$ ). Высота быстрой вспышки указывает на активность перекисного окисления липидов и накопление гидроперекисей, тогда как светосумма характеризует способность биосубстрата к окислению. Таким образом, при добавлении кортексина в концентрации 100 нг/мл к крови с уровнем HbA1 4,2–6,1 на фоне ГБО повышается способность крови к окислению на фоне снижения гидроперекисей. В то же время в крови с уровнем HbA1 6,2–12,0 установлено снижение светосуммы во всех модельных экспериментах в пределах от 27 до 31 % относительно контрольных значений при том же уровне HbA1. Следовательно, более выраженное влияние на свободнорадикальные процессы, направленное на их снижение, кортексин оказывает при уровне HbA1 в крови 6,2–12,0.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Giacco F., Brownlee M.* Oxidative stress and diabetic complications // *Circulation Research*. 2010. Vol. 107. № 9. P. 1058–1070.
2. *Youn J.-Y., Siu K.L., Lob H.E. et al.* Role of vascular oxidative stress in obesity and metabolic syndrome // *Diabetes*. 2014. Vol. 63. № 7. P. 2344–2355.

*Исследования выполнены в рамках базовой части государственного задания Министерства образования и науки НИР № 1878 «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».*

---

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ *IL6* И *IL10* В КЛЕТКАХ КРОВИ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

*К.А. Коваленко, Д.П. Бурьянова, Т.А. Шерчкова, Е.В. Машкина*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им Д.И. Ивановского, Научно-исследовательский институт биологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: konst\_ak@mail.ru*

Окислительный стресс представляет собой механизм, через который реализуется воздействие многих факторов окружающей среды на живой организм. Окислительный стресс – это результат нарушения баланса между продукцией оксидантов и эффективностью работы антиоксидантной системы, приводящий к повреждениям ДНК. Одними из основных составляющих окислительного стресса являются активные формы кислорода. В физиологических условиях активные формы кислорода участвуют в развитии «респираторного взрыва», синтезе гормонов, процессах пролиферации клетки.

Окислительный стресс предположительно может изменять экспрессию некоторых генов. Цитокины представляют собой низкомолекулярные белки, являющиеся эндогенными биологически активными веществами. Они продуцируются постоянно или в ответ на внешние воздействия различного характера: механические, термические, токсические, микробные, аллергические, аутоиммунные, опухолевые, стрессорные и т.д. Подобные неблагоприятные условия могут стать причиной активации ферментативных механизмов генерации активных форм кислорода, в конечном счете вызывая окислительный стресс. Таким образом, окислительный стресс и экспрессия цитокинов взаимосвязаны.

С целью изучения индуцированной экспрессии цитокинов в культуре лимфоцитов периферической крови в качестве материала использовали цельную венозную кровь 11 жителей Ростовской области. В исследование были вовлечены только доноры мужского пола для исключения влияния гормонального фона женщин, опосредованного менструальным циклом, на полученные результаты. Возраст испытуемых составлял от 19 до 51 года. Для определения уровня продукции цитокинов кровь культивировали с 10 мМ  $H_2O_2$  с последующим выделением тотальной РНК из лимфоцитов. Выделенную РНК хранили при 20 °С либо сразу использовали для проведения реакции обратной транскрипции с целью получения кДНК. В дальнейшем, используя амплификатор iQ5 (BioRad, США), проводили real-time PCR с зондами и праймерами, синтезированными фирмой Синтол (Россия) для оценки уровня экспрессии генов цитокинов *IL6* и *IL10*.

В результате проведенного исследования было установлено, что уровень экспрессии гена *IL6* в лимфоцитах периферической крови, подвергавшихся окислительному стрессу воздействием 10 мМ  $H_2O_2$  достоверно не отличается от такого в контроле ( $t=0,25$ ;  $p=0,8$ ). Отличий в уровне экспрессии гена *IL10* в ходе данного исследования также не обнаружено ( $t=0,72$ ;  $p=0,4$ ).

---

## ВЗАИМОРАСПОЛОЖЕНИЕ X-ХРОМОСОМЫ И ХРОМОСОМЫ 4 В ПРОСТРАНСТВЕ ЯДЕР ПИТАЮЩИХ КЛЕТОК *DROSOPHILA SIMULANS* В ХОДЕ РАЗВИТИЯ

А.А. Коханенко, В.Н. Стегний

Томский государственный университет, 634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 36  
E-mail: alinakokhanenko@gmail.com

Трофоциты яичников двукрылых насекомых являются хорошей моделью для изучения пространственной организации политенных ядер. Ранее нами было показано, что в ядрах питающих клеток мухи *Calliphora erythrocephala*, для которых характерны морфологические изменения ядра в ходе развития происходят крупномасштабные перемещения хромосомы 6. На начальных этапах политенизации половая хромосома 6 расположена в центре ядра. На завершающем этапе политенизации основная часть материала хромосомы 6 перемещается к ядерной оболочке, в то время как мелкие глыбки хроматина распределены во внутриядерном пространстве и связаны с ядрышками [1, 2].

Как известно в центральной части ядра могут располагаться как активно экспрессирующиеся [3], так и самые маленькие хромосомы набора [4]. Хромосома 6 *C. erythrocephala* является самой маленькой хромосомой набора [5], что может быть причиной ее центрального положения в ядре на начальных этапах развития. Нас заинтересовал вопрос, характерно ли подобное явление только для ядер питающих клеток *C. erythrocephala* или свойственно для ядер питающих клеток с мероистическим типом оогенеза или политенным ядрам вообще? В связи с этим нами была изучена пространственная организация хромосом в ядрах питающих клеток представителя подгруппы *melanogaster* – *Drosophila simulans*.

В данной работе был проведен анализ взаимного расположения ядрышкообразующей X-хромосомы и самой маленькой хромосомой набора – хромосомы 4 на разных стадиях политенизации ядер питающих клеток *D. simulans* (подгруппа *melanogaster*). Пространственное расположение ДНК-проб хромосом, полученных методом микродиссекции [6], было определено с помощью 3D-FISH с ядрами питающих клеток *D. simulans* на разных стадиях развития.

Анализ результатов показал, что X-хромосома и хромосома 4 *D. simulans* расположены на периферии ядра на всех стадиях политенизации, что отличает их от хромосомы 6 *C. erythrocephala*. В ходе развития X-хромосома рассредотачивается и занимает более обширную область в пространстве ядра, в то время как хромосома 4 располагается компактно на периферии



ядра. Кроме того, нами обнаружена динамика взаиморасположения X-хромосомы и хромосомы 4 друг относительно друга.

Нами был проведен детальный анализ взаимного расположения X-хромосомы и хромосомы 4 в ядрах питающих клеток *D. simulans* на разных стадиях развития с помощью измерения углов между векторами, исходящими от центра ядра до центра хромосомных территорий X-хромосомы и хромосомы 4. В качестве критерия уровня политениции нами использовался средний диаметр ядра, значение которого увеличивается в ходе политенизации. Нами было проанализировано 106 ядер с диаметрами от 9 до 39 мкм.

Проведенный анализ показал, что на самых ранних стадиях развития *D. simulans* (9 мкм) преобладают ядра с удаленным взаиморасположением X-хромосомы и хромосомы 4 (более 85 %). В ходе развития увеличивается встречаемость ядер со сближенным расположением X-хромосомы и хромосомы 4. Для ядер со средним диаметром 27 мкм встречаемость обоих вариантов одинаковая (50 %), а вот для ядер со средним диаметром 33 мкм частота встречаемости ядер со сближенным расположением составляет 60 %. На завершающих этапах политенизации (39 мкм) вновь преобладают ядра с удаленным взаиморасположением X-хромосомы и хромосомы 4 (100 %).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kokhanenko A.A., Anan'ina T.V., Stegnyy V.N. The changes in chromosome 6 spatial organization during chromatin polytenization in the *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) nurse cells // *Protoplasma*. 2013. Vol. 250. P. 141–149.
2. Kokhanenko A.A., Anan'ina T.V., Stegnyy V.N. Localization of rRNA genes in the nuclear space of *Calliphora erythrocephala* Mg. nurse cells during polytenization // *Protoplasma*. 2014. Vol. 251. P. 93–101.
3. Mayer R., Brero A., Hase J. von, Schroeder T., Cremer T., Dietzel S. Common themes and cell type specific variations of higher order chromatin arrangements in the mouse // *BMC Cell Biol*. 2005. Vol. 6. P. 44.
4. Bolzer A., Kreth G., Solovei I., Koehler D., Saracoglu K., Fauth C., Müller S., Eils R., Cremer C., Speicher M.R., Cremer T. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes // *PLoS Biol*. 2005. № 3.
5. Boyes J.W., Shewell G.E. Cytotaxonomy of Calliphoridae (Diptera) // *Genetica*. 1975. Vol. 45. P. 435–488.
6. Артемов Г.Н., Стегний В.Н. Молекулярно-генетический анализ района прикрепления X-хромосомы к оболочке ядра трофоцитов яичников малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. // *Генетика*. 2011. Т. 47. № 10. С. 1307–1314.

*Работа выполнена при финансовой поддержке стипендии Президента РФ СП-1037.2013.4 и частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-32078-мол\_а, Программы научного фонда имени Д.И. Менделеева ТГУ и гранта РНФ № 151420011.*

---

## ИЗМЕНЕНИЕ ТЕКУЧЕСТИ МЕМБРАН КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СВЧ-ДИАПАЗОНА

**О.В. Крюкова<sup>1</sup>, А.А. Самойлова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, 660036, Российская Федерация, г. Красноярск, Академгородок, 50

<sup>2</sup>Институт фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета, 660041, Российская Федерация, г. Красноярск, пр. Свободный, 79

E-mail: marta913@mail.ru

Низкоинтенсивные электромагнитные поля в диапазоне сверхвысоких частот не вызывают видимых повреждений в тканях организма, но при определенных обстоятельствах приводят к разнообразным ответным реакциям в живом организме [1–3].

В качестве индикаторов для проверки влияния различных факторов среды на биологические объекты можно использовать мембраны клеток. Интегральным показателем, характеризующим как структурные, так и функциональные аспекты билипидного слоя мембран является их текучесть. Под «текучестью» в данном случае имеется в виду сопротивление, которое оказывает мембрана различным типам перемещений в ней. Как правило, для измерения текучести наблюдают за движением спиновых или флуоресцентных зондов, включенных в мембрану [4].

В работе регистрировали текучесть мембран клеток асцитной карциномы Эрлиха в зоне белок–липидных и липид–липидных контактов по движению флуоресцентного зонда – пирена. Спектры флуоресценции снимали на спектрофлуориметре AmincoBowmanSeries 2 (Thermo Spectronic, USA).

Воздействие электромагнитного поля СВЧ-диапазона животных-реципиентов экспериментальной опухоли проводили ежедневно в течение 1 ч на установке для облучения мелких лабораторных животных (1 ГГц, ППЭ  $\approx 70$  мкВт/см<sup>2</sup>) [5]. Клетки асцитной карциномы Эрлиха забирали на 7-е, 9-е, 11-е и 13-е сутки роста опухоли у животных-реципиентов как контрольной группы, так и группы, которая подвергалась воздействию электромагнитного излучения СВЧ-диапазона.

В результате работы получено, что СВЧ-излучение изменяет текучесть мембраны клеток асцитной карциномы Эрлиха в зоне белок-липидного контакта. В контрольной группе значение параметра плавно падает с 7-й по 13-е сутки роста опухоли. В то время как в группе, где животные-реципиенты подвергались воздействию СВЧ-излучения, текучесть мембраны клеток асцитной карциномы Эрлиха остается на одном уровне на протяжении всего эксперимента и не зависит от фазы роста опухоли в организме.

В липидном бислое изменение текучести мембраны клеток асцитной карциномы Эрлиха в контрольной и экспериментальной группе имеет сходный характер – значение параметра плавно возрастает с 7-е по 13-е сутки.

Изменения текучести мембраны опухолевых клеток в контрольной группе в зоне белок-липидного контакта и в зоне липидного бислоя связаны с особенностями метаболического состояния самих клеток в суспензии АКЭ, находящихся на разных стадиях роста опухоли. Поскольку функциональное и структурное состояние мембраны клеток тесно связано с метаболическими изменениями, происходящими в клетке.

Происходящие изменения текучести мембран при взаимодействии слабого электромагнитного поля с мембранами опухолевых клеток может быть связано с поляризационными колебаниями, возникающими под действием электромагнитного поля СВЧ и приводящими к деформационной неустойчивости в мембранах и возникновении пор при понижении мембранного потенциала [6].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Blank M., Goodman R. Electromagnetic fields stress living cells // *Pathophysiology*. 2009. № 16. P. 71–78.
2. Calderon C., Addison D., Mee T., Findlay R., Maslanyj M., Conil E., Kromhout H., Lee A., Sim M.R., Taki M. Assessment of extremely low frequency magnetic field exposure from GSM mobile phones // *Bioelectromagnetics*. 2014. Vol. 35. P. 210–221.
3. Ghanmi A., Varsier N., Hadjem A., Conil E., Picon O., Wiert J. Analysis of the influence of handset phone position on RF exposure of brain tissue // *Bioelectromagnetics*. 2014. Vol. 35. P. 568–579.
4. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Серия Биологические и технические мембраны. Академия наук СССР. Институт биологической физики. М.: Наука, 1980. 320 с.
5. Копылов А.Ф., Круглик О.В., Хлебопрос Р.Г. СВЧ установка для исследования биологических эффектов у мышей // *Южно-Сибирский научный вестник*. 2014. № 1. С. 28–29.
6. Захватаев В.Е., Хлебопрос Р.Г. Электрострикционная неустойчивость Куперштоха-Медведева как возможный механизм инициации фазовых переходов, доменов и пор в липидных мембранах и воздействия КВЧ-излучения на клетку // *Биофизика*. 2012. Т. 57. № 1. С. 75–82.

# АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ЛИШАЙНИКОВ *Cladonia stellaris* И *Cetraria laevigata*, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ НЕРЮНГРИНСКОГО УГОЛЬНОГО РАЗРЕЗА

З.А. Кудинова

Научно-исследовательский институт прикладной экологии Севера Северо-Восточного федерального университета, 677058, Российская Федерация, г. Якутск, пр. Ленина, 43  
E-mail: kudi-nova@yandex.ru

Лишайники являются традиционным объектом экологического мониторинга и биоиндикации загрязнения окружающей среды. Изучаются разные признаки лишайникового покрова, и выводы делаются на основе анализа, как всего комплекса учитываемых показателей, так и выявленных изменений только одного признака.

Разрез «Нерюнгринский» – одно из крупных предприятий по открытой добыче угля на Северо-Востоке России. Он является основным источником загрязнения атмосферы в данном регионе. По данным аэрокосмической съемки района исследований и анализов пылевой и геохимической составляющей снежного покрова, нами условно выделены 4 зоны техногенной нагрузки вокруг карьера [1].

Геоботанические исследования показали заметную техногенную трансформацию растительности в зоне влияния разреза «Нерюнгринский» [2]. Также проведенные нами на данной территории исследования показали прямую зависимость изменений в составе сообществ лишайников, их обилия и соотношение видов по зонам от степени пылевой нагрузки на территорию [3].

В любом живом организме постоянно протекают реакции окисления субстрата, являясь факторами регуляции важнейших метаболических процессов. Постоянство уровня суммарной антиокислительной активности тканей и индивидуальность этого уровня для каждого организма служат одним из основных показателей гомеостаза [4].

Активность антиоксидантных систем ( $k_{\text{аоз}}$ ) лишайников и коэффициент антиоксидантно-прооксидантного равновесия ( $k_{\text{аоз}} / k_{\text{пол}}$ ) рассчитывали по формулам:

$$(k_{\text{аоз}})_N = \Sigma(\text{параметры АО-систем})_N / \text{кол-во изученных АО-систем},$$

где: (параметры АО-систем)<sub>N</sub> – нормированные к контролю значения НМАО, СОД;

$$(k_{\text{аоз}} / k_{\text{пол}})_N = (k_{\text{аоз}})_N / [\text{активность ПОЛ}]_N;$$

активность ПОЛ<sub>N</sub> – нормированное к контролю содержание МДА.

В районе исследования в зоне 1, наибольшей пылевой нагрузки, происходит истощение антиоксидантной системы лишайников, вследствие этого резко возросло перекисное окисление липидов, которое со временем приводит к разрушению комплекса белок-липид, патологии мембран и гибели клетки (табл).

Таблица

**Показатели активности антиоксидантной защиты лишайников**

Вид лишайника	Зоны техногенной нагрузки	Σ НМАО	Активность СОД	ПОЛ	$k_{\text{аоз}}$	$k_{\text{аоз/пол}}$
<i>Cladonia stellaris</i>	1	1,07	0,84	2,96	<b>0,96</b>	<b>0,32</b>
	2	1,29	0,89	2,18	<b>1,09</b>	<b>0,5</b>
	3	1,35	1,03	1,62	<b>1,19</b>	<b>0,73</b>
	4 фон	1	1	1	<b>1</b>	<b>1</b>
<i>Cetraria laevigata</i>	1	1,19	0,89	2,73	<b>1,04</b>	<b>0,38</b>
	2	1,24	0,92	1,06	<b>1,08</b>	<b>1,02</b>
	3	1,66	0,87	1,08	<b>1,27</b>	<b>1,18</b>
	4 фон	1	1	1	<b>1</b>	<b>1</b>

В лишайниках *Cladina stellaris* и *Cetraria laevigata* коэффициент антиоксидантной защиты и коэффициент антиоксидантно-прооксидантного равновесия смещен в сторону усиления защитных реакций при переходе от зоны 1 к зоне 3.

Как видно из показателей  $k_{\text{аоз}} / k_{\text{пол}}$ , равновесие систем сильно нарушено и смещено в сторону ПОЛ у вида *Cladina stellaris*. Вид *Cetraria laevigata* оказался наиболее устойчивым к неблагоприятным факторам окружающей среды, коэффициент равновесия смещен в сторону усиления антиоксидантной защиты.

Таким образом, лишайники вида *Cladina stellaris* более чувствительны к изменениям в окружающей среде, чем лишайники вида *Cetraria laevigata*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов В.В. Экологические аспекты разработки угольных месторождений Северо-Востока России. М.: ООО Недра-Бизнесцентр, 2007. 116 с.
2. Миронова С.И. Техногенные сукцессионные системы растительности в условиях криолитозоны. Новосибирск: Наука, 2000. 140 с.
3. Кудинова З.А. Иванов В.В. Влияние угольного разреза «Нерюнгринский» (Южная Якутия) на сообщества лишайников // Проблемы региональной экологии. 2008. № 2. С. 76–78.
4. Журавлев А.И. Биоантиокислители в живых организмах // Биоантиокислители. М.: Наука, 1979. 267с. С. 15–29.

---

## ПЕПТИДОМНЫЙ АНАЛИЗ ЯДА ПАУКА *Lachesana tarabaevi*

А.И. Кузьменков, Е.В. Гришин, А.А. Василевский

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10  
E-mail: anteka@ya.ru

В последнее время во многих передовых областях науки формируется тенденция к изучению биологического материала на системном уровне, т.е. комплексно. Это стало возможно благодаря интенсивному развитию комбинации транскриптомных методов анализа, масс-спектрометрии и хроматографии. Исключением не стали и яды различных животных, например, паукообразных, представляющие собой сложные смеси активных компонентов весьма разнообразных по структуре и функциям. Известно, что яд паука может включать в себя сотни активных молекул (от низкомолекулярных компонентов до многодоменных белков), каждая из которых имеет свою определенную функцию.

В рамках данной работы мы применили описанные системные подходы к изучению яда паука *Lachesana tarabaevi*. Во-первых, с помощью специального биоинформатического подхода, разработанного в лаборатории нейрорецепторов и нейрорегуляторов, была сконструирована база кДНК из ядовитых желез *L. tarabaevi*. Нуклеотидные последовательности, содержащие стартовый кодон, были транслированы *in silico*. Были установлены полные аминокислотные последовательности полипептидов, которые могли бы потенциально находиться в яде. Во-вторых, в результате нескольких раундов хроматографического разделения цельного яда, его компоненты были получены в индивидуальном состоянии. Далее был произведен масс-спектрометрический анализ каждого компонента, позволивший получить экспериментальные молекулярные массы. Сравнение данных, полученных при транскриптомном и масс-спектрометрическом анализе, позволило выявить ранее известные компоненты, а также идентифицировать новые полипептиды. И наконец, с помощью комбинации методов автоматического N-концевого секвенирования по Эдману, масс-спектрометрии и селективного протеолиза по остаткам метионина были установлены полные аминокислотные последовательности новых молекул.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-32091 мол\_а

## РОЛЬ РАЗЛИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ УХАЖИВАНИЯ В БРАЧНОМ ПОВЕДЕНИИ *Drosophila virilis*

***О.Е. Лазебный<sup>1</sup>, Е.Г. Белкина<sup>1</sup>, В.Ю. Веденина<sup>2</sup>***

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, 26

<sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, 127051, Российская Федерация, г. Москва, Большой Каретный переулок, 19, стр. 1

E-mail: oelazebny@gmail.com

Половая изоляция является одним из важных репродуктивных барьеров, препятствующих гибридизации и обмену генов между близкородственными видами дрозофил в их естественной среде обитания. Брачный ритуал дрозофил включает обмен между полами сигналами различной модальности: химическими, визуальными, акустическими и тактильными стимулами.

Ранее было показано, что ощупывание и лизание являются наиболее продолжительными элементами ухаживания у нескольких видов-двойников группы *D. virilis*; эти элементы, как правило, проявляются одновременно, и вибрация крылом обычно происходит на фоне ощупывания и лизания. В настоящем исследовании мы изучаем роль сигналов разной модальности в узнавании плового партнера у *D. virilis* после селективного блокирования сигналов и рецепторов с использованием видео-компьютерного подхода. Удаление крыльев у самцов и арист у самок значительно сокращает процент спариваний (60–63 %) по сравнению с интактными особями (87 %). В то же время бескрылые самцы ухаживают за самками так же активно, как и интактные. Бескрылые самцы продемонстрировали значительно большую длительность ощупывания и лизания, по сравнению с интактными самцами, и они также показали самое длительное кружение. Интактные самцы преследовали самок с удаленными аристами, пели им и кружились вокруг них значительно дольше, чем в тестах с интактными самками. Тем не менее, латентное время лизания, пения и кружения в тестах с самками без арист было значительно короче, чем в тестах с интактными самками. В отличие от бескрылых самцов, самцы с ампутированным тарзусом передней пары лапок в основном отказывались от ухаживания за самками – только 17 % самцов проявили признаки брачного поведения.

---

## РОЛЬ СИСТЕМНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В РАЗВИТИИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МОЗГА КРЫС ЛИНИИ WISTAR, ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ

***А.А. Логвиненко<sup>1</sup>, О.А. Музычук<sup>1</sup>, К. Бауерова<sup>2</sup>, И. Левачева<sup>3</sup>, Т.Н. Федорова<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Научный центр неврологии, 125367, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., 80

<sup>2</sup>Институт экспериментальной фармакологии и токсикологии Словацкой Академии наук (Братислава, Словацкая Республика)

<sup>3</sup>Институт фармацевтической технологии (Марбург, Германия)

E-mail: anna.a.logvinenko@gmail.com

Воспалительные процессы играют важную роль в патогенезе ревматоидного артрита и сердечно-сосудистых заболеваний и могут стать причиной развития окислительного стресса на уровне целого организма. Активация окислительной модификации структурных компонентов клеток головного мозга сопровождается снижением уровня эндогенной антиоксидантной системы защиты. В этих

условиях становится целесообразным применение препаратов, обладающих сочетанным действием как в отношении воспалительных факторов, так и окислительных повреждений. Одним из наиболее эффективных соединений с высоким антиоксидантным потенциалом является нейропептидкарнозин (бета-аланил-L-гистидин). Однако карнозин быстро вовлекается в метаболические процессы и выводится из организма. Принципиально новую методологию в разработке нового поколения лекарственных препаратов представляет создание наноструктур – носителей активных соединений. Нами разработана новая стабильная форма карнозина в составе нанолипосом. Другим подходом к защите нейропептида от действия разрушающих его ферментов явилось создание комплексного соединения карнозина с тролоксом, разработанное в нашей лаборатории совместно с японскими коллегами.

Целью данного исследования явилась оценка нейропротекторного действия нового соединения тролокс-карнозин и наноструктурного комплекса карнозина в составе липосом в условиях системного окислительного стресса, обусловленного экспериментальным ревматоидным артритом (РА) у крыс линии Wistar.

Экспериментальные исследования были проведены на 48 крысах самцах линии Wistar в возрасте 8 месяцев с массой тела 250–300 г. Животные были разделены на 6 групп по 8 животных в каждой: контроль, интактные животные; экспериментальный РА, индуцированный *Mycobacterium butyricum*; РА + карнозин (150 мг/кг массы тела); РА + карнозин в составе нанолипосом (150 мг/кг в пересчете на карнозин); РА + тролокс-карнозин (75 мг/кг); РА + тролокс (41 мг/кг). Исследуемые соединения вводили внутривентриально, ежедневно в течение 28 дней. В крови и мозге экспериментальных животных определяли уровень продуктов окислительной модификации липидов (гидроперекиси – h, малоновый диальдегид – МДА, 4-гидроксиноненил – 4-ГН), а также активность системы антиоксидантной защиты ( $\tau$ ) с помощью метода  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) и иммуноферментного анализа.

**В плазме крови крыс с РА** наблюдалось повышение липидных гидроперекисей (h) на 12 %, что сопровождалось снижением уровня эндогенной антиоксидантной защиты ( $\tau$ ) на 43 % относительно контроля. Карнозин в составе нанолипосом, тролокс-карнозин и тролокс снижали уровень h до контрольных значений, при этом карнозин не оказывал существенного влияния на этот параметр. Все исследуемые соединения повышали  $\tau$  до контрольных величин, при этом наиболее эффективно – карнозин в составе нанолипосом (на 21 % выше контроля, на 19 % выше карнозина и на 17 % – выше тролокс-карнозина). Менее эффективным оказался тролокс, который способствовал повышению  $\tau$  на 45 % относительно животных с РА, но этот показатель оставался пониженным как относительно контроля, так и других исследуемых соединений.

**В мозге крыс с РА** повышения уровня h не отмечалось, при этом наблюдалось снижение  $\tau$  на 35 % относительно контрольных значений. Все исследуемые соединения повышали  $\tau$  до уровня контрольных значений, в то же время наибольшая антиоксидантная активность также отмечалась у карнозина в составе нанолипосом, которая на 16 % превышала контрольные значения и была эффективнее карнозина на 14 %, тролокс-карнозина – на 11 % и тролокса – на 22 %.

**В плазме крови животных с РА** отмечалось значительное (в 2,4 раза) повышение содержания МДА относительно контрольных значений. Карнозин и карнозин в составе нанолипосом наиболее эффективно снижали содержание МДА в плазме крови животных – до уровня контрольных значений. Тролокс-карнозин и тролокс снижали содержание МДА относительно животных с РА, но этот показатель оставался повышенным относительно контроля.

**В мозге животных с РА** содержание МДА возрастало в 1,9 раза относительно контроля, при этом под действием всех исследуемых соединений содержание МДА снижалось до уровня контрольных значений.

**В плазме крови и мозге животных с РА** отмечалось повышение 4-ГН (на 39 и 32 %, соответственно) относительно контроля. Карнозин в составе нанолипосом, тролокс-карнозин, карнозин и тролокс в одинаковой степени снижали содержание 4-ГН до уровня контрольных значений.

Наиболее выраженное протекторное действие выявилось у карнозина в составе нанолипосом. Проведенное экспериментальное исследование может быть основанием для разработки новых способов лечения ревматоидного артрита и профилактики развития цереброваскулярных заболеваний в условиях системного окислительного стресса.

# **РОЛЬ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В АДАПТИВНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ТКАНЕВЫХ РЕГИОНОВ ПРОСТАТЫ КРЫС ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

*И.А. Лугин, К.А. Перцевой, Б.В. Троценко, А.А. Филиппова*

*Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295006, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7  
E-mail: iglugin@hotmail.com; kirillo0077@yandex.ua; bortro@mail.ru; aytsan94@mail.ru*

В последнее время остро стоит проблема сохранения репродуктивного здоровья мужчин. Особое внимание уделяется заболеваниям предстательной железы, одними из которых является хронический неспецифический простатит. По данным клинических обследований, именно эта разновидность простатита выявляется в 30–40 % случаев у пациентов в возрасте 20–40 лет. Причинами широкого распространения хронического простатита являются стрессовые условия существования и малоподвижный образ жизни современного человека.

Цель исследования – изучить роль соединительной ткани тканевых регионов простаты крыс в процессах адаптивной и патологической трансформации под воздействием гипокинетического стресса.

Объектом исследования стала предстательная железа 144 крыс разных возрастных групп (75, 135, 210 и 420 суток постнатального развития), которых подвергали воздействию гипокинетического стресса разной продолжительности (от 9 до 14 суток) путем помещения животных экспериментальной группы в специальные плексигласовые клетки. Продолжительность гипокинетического стресса составляла 22 часа в сутки на протяжении 9 и 14 дней. Для каждого возраста крыс присутствовала контрольная группа, которая находилась в стандартных условиях вивария. Полученные образцы тканей простаты крыс были изучены морфологическими, ультрамикроскопическими и морфометрическими методами.

Установлено, что ключевую роль в процессах морфологических изменений в предстательной железе крыс под воздействием экспериментального гипокинетического стресса играют дисциркуляторные нарушения в сосудах микроциркуляторного русла простаты, что имеет разную степень выраженности в четырех долях железы, в зависимости, от длительности стрессового фактора.

Так, на девятые сутки стресса дисциркуляция выражалась в форме стаза форменных элементов в гемокapиллярах у животных всех экспериментальных групп, а на четырнадцатые сутки стресса у зрелых и старых крыс обнаруживались феномены плазморрагий и геморрагий, которые сопровождалась дезинтеграцией и лейкоцитарной инфильтрацией соединительнотканного компонента стромы вентральной, дорсальной и дорсолатеральной долей предстательной железы.

При ультрамикроскопическом исследовании участков периваскулярного отека рыхлой соединительной ткани фиброзно-мышечной стромы простаты мы обнаружили интрацеллюлярный отек в фибробластах рыхлой соединительной ткани, а также дезинтеграцию митохондриальных крист в плазмочитах. Указанные факты подтверждают признаки воспалительного процесса на электронно-микроскопическом уровне.

Важно, что наряду с патологическими изменениями в тканевых регионах простаты отмечаются компенсаторно-репаративные процессы, выраженные в образовании рубцовой коллагеновой соединительной ткани. Эти изменения в предстательной железе, можно считать адаптивной трансформацией рыхлой волокнистой соединительной ткани, которая заполняет зоны лимфостаза и дезинтегрированной стромы, что является проявлением тканевой реактивности. В результате, развивается фиброзный склероз стромы, однако эти процессы стимулируют простатические единицы к компенсаторной пролиферации и росту протоков в центральных регионах предстательной железы.

Последнее подтверждается результатами морфометрических исследований длины сечения протоков простаты, у крыс разных возрастных групп. Наши исследования показали, что длина сечения протоков адаптивно возрастает в сравнении с контролем во всех возрастных группах:

в 6,91 раз в группе крыс возрастом 75 суток постнатального развития ( $p < 0,05$ ); а также в 7,75 раз в группах крыс возрастом 135 и 210 суток постнатального развития ( $p < 0,05$ ) и в 8,6 раз в группе крыс возрастом 420 суток постнатального развития ( $p < 0,01$ ). Степень выраженности повреждений максимальна в тканевых регионах, расположенных на периферии органа, на четырнадцатые сутки гипокинетического стресса, в то время как компенсаторно-восстановительные процессы преобладают в тканевых регионах центральных зон.

Таким образом, длительный гипокинетический стресс у крыс разных возрастных групп вызывает дисциркуляторные нарушения в микроциркуляторном русле простаты, которые сопровождаются комплексом патологических изменений, характерных для хронического простатита. Это приводит к компенсаторно-адаптивному фиброзу стромы и усилению пролиферативной активности эпителия протоков, при этом ведущую роль в адаптивных процессах играет взаимодействие клеток дифферона фибробластов с эпителиоцитами протоков предстательной железы.

---

## **ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО СВЕРХВЫСОКОЧАСТОТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ТКАНЯХ ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ**

*Г.В. Макарская, С.В. Тарских, О.В. Крюкова*

*Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, 660036, Российская Федерация, г. Красноярск, Академгородок, 50  
E-mail: mgv@icm.krasn.ru, marta913@mail.ru*

Существенную роль во многих реакциях обмена веществ и формирования структур клетки, в том числе и мембран, играют активные формы кислорода (АФК). Известно, что электромагнитного излучения в СВЧ-диапазоне при действии на биологические системы способно вызывать избыточное образование АФК [1–4].

Цель работы – выявить особенности изменения продукции активных форм кислорода в тканях здоровых животных под действием электромагнитного СВЧ-излучения.

Регистрацию АФК в периферической крови, костном мозге и печени здоровых мышей проводили методом хемилюминесцентного анализа в течение 90 мин при температуре 37 °С на аппаратурно-программном комплексе «Хемилюминетр СЛ–3604–ПЭВМ», предназначенном для измерения сверхслабых свечений биологической и физико-химической природы. В качестве зондов использовали люминол и люцигенин. Оценку продукции АФК проводили по амплитуде максимальной активности хемилюминесцентной реакции (имп./с).

Исследование проводили на белых лабораторных мышах-самцах аутбредной популяции ICR массой 25–27 г, полученных в питомнике ФГБУН ГНЦ «Вектор», в соответствии с Международными правилами с соблюдением биоэтических норм работы с лабораторными животными.

Воздействие электромагнитного поля СВЧ-диапазона на животных проводили ежедневно в течение 1 ч на установке для облучения мелких лабораторных животных (1 ГГц, ППЭ  $\approx 70$  мкВт/см<sup>2</sup>) [4].

Анализируя полученные в работе данные об интенсивности хемилюминесцентной реакции в суспензиях клеток костного мозга и печени, можно заключить, что имеется сходный ответ в генерации АФК на воздействие электромагнитного излучения СВЧ-диапазона. К шестому часу облучения у животных наблюдается резкое повышение содержания АФК в суспензиях клеток костного мозга и печени, затем идет спад ниже уровня контрольных значений, как для первичных, так и вторичных АФК. Вероятно, проявляется накопительный эффект от воздействия. Суммарно шесть часов ежедневного воздействия СВЧ-излучения являются для животных критическими, поскольку образование АФК является характерной особенностью механизма действия стресс-защитных систем при поддержании гомеостаза организма и развитии реакции адаптации.



В периферической крови животных наблюдали повышение уровня интенсивности образования первичных АФК к 10-м суткам и затем снижение до уровня контроля. Повышение интенсивности образования вторичных радикалов в крови наблюдается после восьми часов суммарного воздействия электромагнитного излучения СВЧ-диапазона с последующим снижением до уровня контроля. Однако общий объем образовавшихся первичных АФК, также как и в суспензии костного мозга и печени, увеличивается после шести часов облучения.

Иная картина генерации АФК в периферической крови может быть связана с тем, что кровь, являясь внутренней средой, контактирует с клетками органов, поддерживая, насколько это возможно, гомеостаз организма в меняющихся условиях окружающей среды – экстремального фактора электромагнитного излучения. Известно, что в условиях как гипероксии, так и гипоксии возможна индукция образования АФК в тканях. В основе защитных эффектов воздействия гипоксии лежат механизмы, ограничивающие чрезмерную активацию свободно-радикальных процессов путем опосредованной индукции синтеза собственных защитных систем [5].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Aydin B., Akar A.* Effect of 900 MHz radiofrequency radiation on oxidative stress in rat brain and serum // *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2013. Vol. 32. № 1. P. 20–29.
2. *Bilgici B., Akar A., Avci B., Tuncel O.K.* Effect of 900 MHz radiofrequency radiation on oxidative stress in rat brain and serum // *Electromagnetic Biol. and Med.* 2013. Vol. 32. № 1. P. 20–29.
3. *Cao H., Qin F., Liu X., Wang J., Cao Y., Tong J., Zhao H.* Circadian Rhythmicity of Antioxidant Markers in Rats Exposed to 1.8 GHz Radiofrequency Fields // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2015. № 12. P. 2071–2087
4. *Копылов А.Ф., Круглик О.В., Хлебопрот Р.Г.* СВЧ установка для исследования биологических эффектов у мышей // *Южно-Сибирский научный вестник*. 2014. № 1. С. 28–29.
5. *Hermes-Lima M., Zenteno-Savin T.* Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress // *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2002. Part C 133. P. 537–556

---

## ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИЙ 7-АЦИЛМЕТИЛ-8-БРОМ-3-МЕТИЛКСАНТИНОВ С ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫМИ РЕАГЕНТАМИ

*М.В. Назаренко<sup>1</sup>, Н.И. Романенко<sup>2</sup>, А.М. Кацев<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Крымский федеральный университет, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295006, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7*

<sup>2</sup>*Запорожский государственный медицинский университет, 69035, Украина, г. Запорожье, просп. Маяковского, 26*

*E-mail: maryn1988@gmail.com*

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания продолжают быть основной причиной смертности среди населения в большинстве районов России по сравнению с общеевропейской тенденцией постепенного снижения данного показателя. Несмотря на уже имеющееся количество лекарственных препаратов для лечения заболеваний сердца, поиск новых средств продолжает быть актуальным. Особенно перспективными в данном вопросе являются производные природного алкалоида – ксантина. Так, известно, что 7-ацилметил-8-бромксантины используются для синтеза конденсированных по ребру «f» производных (1,3-оксазоло-, тиазоло-, имидазоксантинов), проявляющих широкий спектр фармакологического действия. Введение разнообразных заместителей в положение 1 молекулы 7-ацилметил-8-бромксантинов с последующей циклизацией 1,3,7-тризамещенных 8-бромксантина значительно увеличивает число биологически активных соединений.

Нами было установлено, что нагревание 7-ацилметил-8-бром-3-метилксантинов с алкил-, бензилгалогенидами, амидами, сложными эфирами галогеналкановых кислот в диметилформамиде в присутствии поташа ведет к образованию соответствующих производных оксазоло[2,3-f]ксантина (рис.).

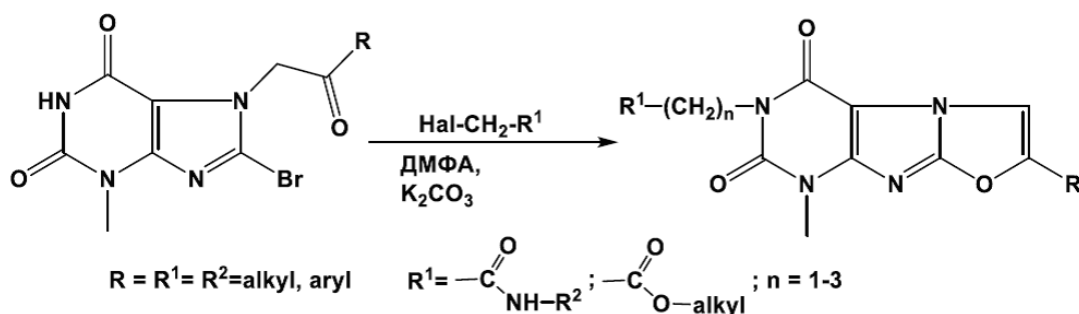


Рис. Схема синтеза производных оксазоло[2,3-f]ксантина

Структуру полученных веществ подтвердили методами ИК-, ПМР-спектроскопии, тонкослойной хроматографии. Изучили реакции взаимодействия полученных веществ с первичными, вторичными аминами, гидразингидратом. Предложены механизмы гетероциклизации веществ. Получены данные фармакологического скрининга. Результаты находятся на стадии обсуждения.

## ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ С ОЧЕНЬ СЛАБОЙ ПЕРЕМЕННОЙ КОМПОНЕНТОЙ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ МЕТАМОРФОЗА У МУЧНОГО ХРУЩАКА *Tenebrio molitor*

В.В. Новиков

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Российская Федерация, Московская обл., г. Пущино  
E-mail: dostag@mail.ru

Влияние, которое оказывают слабые магнитные поля (МП) на процессы в живых организмах, является предметом исследований, не прекращающихся в течение многих лет. Это представляет академический и практический интерес, связанный с чувствительностью многих людей к действию магнитных бурь, и с тем, что все мы подвергаемся электромагнитному облучению все возрастающим числом приборов и бытовой техники. Отсутствие единого объяснения является естественным следствием сложности объекта – живого организма, а также многообразия возможных биофизических механизмов действия слабых МП.

К настоящему времени достигнут определенный прогресс в исследованиях эффектов и механизмов действия слабых и крайне слабых постоянных и переменных магнитных полей с параметрами, соответствующими диапазону естественных (геомагнитных) и искусственных (техногенных) МП – нано- и микротесловые интенсивности и низкие частоты (единицы, десятки и сотни Гц). Представляет интерес исследование действия подобных полей на процессы метаморфоза. Выбор модели для исследования обусловлен предыдущими сообщениями о чувствительности процессов метаморфоза у мучного хрущака *Tenebrio molitor* к действию слабых комбинированных МП. Так, в работе [1] выявлено стимулирующее действие слабых комбинированных МП, настроенных на параметрический резонанс для ионов кальция и калия при соотношении величин переменной

к постоянной составляющей 1,8, а также очень слабого переменного МП амплитудой 1,6 мкТл и частотой 76 Гц, настроенной на магнитные моменты ядер атомов водорода. Во всех этих случаях авторы отмечают сокращение стадии куколки мучного хрущака *Tenebrio molitor*. Далее мы провели исследование, которое показало чувствительность процессов метаморфоза мучного хрущака *Tenebrio molitor* к действию еще более слабой переменной компоненты комбинированных МП – 250 нТл [2]. Было показано, что эффект действия МП зависит от частоты переменной компоненты. Так, при постоянном МП 42 мкТл на частоте 4,4 Гц (соответствует циклотронной для ионной формы глутаминовой кислоты) поле стимулировало морфогенез – время превращения куколок в имаго сокращалось. При настройке на резонансную частоту для иона кальция (32,2 Гц) был отмечен противоположный ингибирующий эффект. Воздействие на циклотронной частоте иона калия (16,5 Гц) не оказывало заметного влияния на изучаемый параметр. Мы решили продолжить исследования в диапазоне более слабых интенсивностей переменного МП. Для этого нами были проведены эксперименты с экранированием биологических объектов, чтобы ослабить внешние геомагнитные пульсации и техногенные помехи. Представленная в работе постановка опытов для обнаружения действия комбинированных МП с очень слабой переменной компонентой с одновременным использованием двух идентичных магнитоэкранированных камер со встроенной системой формирования экспериментальных МП, позволила практически исключить сопутствующие магнитные помехи и повысила в связи с этим надежность результатов.

Полученные результаты позволяют затронуть вопрос о пороговых для биологического ответа значениях амплитуды переменной компоненты поля. Для двух исследованных в работе частот 4,4 Гц и 32,2 Гц при коллинеарном постоянном поле 42 мкТл (геомагнитный диапазон интенсивности) реакция объекта на воздействие зарегистрирована при амплитудах переменного МП не ниже 40 нТл. На этих обеих частотах пошаговое уменьшение переменного МП от 40 нТл до 6 нТл не привело к появлению биологического ответа. Эти данные указывают на возможность существования порога в области ~ 40 нТл в сверхнизкочастотном диапазоне.

В целом полученные данные свидетельствуют о возможности модуляции (ускорения, торможения) продолжительности процессов метаморфоза мучного хрущака *Tenebrio molitor* на стадии куколки с помощью слабых комбинированных МП, настроенных на циклотронные частоты различных биологически активных ионов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ермаков А.М., Леднев В.В. Влияние слабых комбинированных магнитных полей на метаморфоз мучного хрущака *Tenebrio molitor* // Биофизика. 2010. Т. 55, В.4. С. 715–719.
2. Новиков В.В., Шейман И.М., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Модулирующее действие слабых комбинированных магнитных полей на продолжительность метаморфоза мучного хрущака *Tenebrio molitor* // Биофизика. 2014. Т. 59, В.6. С. 1157–1160.

---

## АВТОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ ГЕТЕРОТЕРМНОГО ОРГАНИЗМА В РАЗЛИЧНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА

**П.М. Нурмагомедова<sup>1,2</sup>, Д.Н. Джанбулатова<sup>1</sup>, Э.З. Эмирбеков<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Дагестанский государственный университет, 367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43а

<sup>2</sup>Южный федеральный университет, филиал в г. Махачкале, 367013, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Юсупова, 51

E-mail: Parizat1949 @bk.ru;

Функциональные изменения, возникающие при смене физиологического состояния, тесно связаны с происходящими при этом биохимическими процессами, направленными на поддержание определенного гомеостаза, даже при очень низкой температуре тела.

Необходимо заметить, что подавление метаболизма гибернирующих животных в зимний период не является простым следствием влияния низких температур на скорость биохимических реакций. Наоборот, снижение температуры тела происходит в результате хорошо скоординированного подавления обменных процессов в органах и тканях.

В настоящее время все большее внимание уделяют проблеме влияния регуляторов пептидной и/или белковой природы на состояние классических медиаторных систем, через которые реализуются адаптивные перестройки метаболизма. Для образования этих регуляторов существует два основных пути: активация ранних генов, либо ограниченный протеолиз.

Существенную роль в приспособлении клеток гетеротермных животных к функционированию в различных температурных условиях может играть процесс синтеза новых или модификация структуры и функции имеющихся в клетке белков.

Подавление биосинтеза белка при гибернации – хорошо установленный факт. Однако перед выходом из спячки, еще при низкой температуре тела, активность белоксинтезирующей системы повышается. Синтез новых белков, естественно, сопряжен с деградацией имеющихся. Распад белков является важным биохимическим процессом, отражающим интенсивность физиологических процессов в клетке, и продукты деградации белков участвуют в регуляции метаболизма животных впадающих в зимнюю спячку.

Образование и инактивация многих биологически активных пептидов регулируется ферментами протеолиза. Поэтому весьма актуальной задачей является поиск механизмов, включающих процессы подготовки зимоспящих к вхождению в состояние спячки осенью и весной – выход из спячки и, роли протеаз, подвергающих автолизу эндогенные белки.

Автолитическая активность Са-зависимых нейтральных протеиназ определена нами в мозге и печени суслика малого (*Citellus pigmaeus* Pallas), являющегося типичным представителем зимоспящих осенью, перед вхождением в состояние спячки, и весной, при пробуждении от спячки.

Сравнение результатов автолитической активности показало, что у животных, которые вышли из зимней спячки в печени и в мозге активность при 10 °С почти одинаковая и по сравнению с данными, полученными осенью. При температуре 37 °С автолитическая активность внутриклеточных протеиназ сусликов имеет тканевую и сезонную специфичность. Температурная зависимость автолиза в мозге в координатах Аррениуса весной отличается от таковой осенью, перед спячкой. Тканевая специфичность автолиза проявляется лишь при температурах, характерных для теплокровного организма.

Автолитическая активность тканей характеризует как активность ферментов распада белков (внутриклеточных протеиназ), так и состояние эндогенных белков, их атакуемость протеиназами. Наблюдаемое нами различие в активности автолиза в мозге сусликов осенью, перед спячкой, и весной, при выходе из состояния спячки, может свидетельствовать о повышении активности ферментов, активирующих «пептиды пробуждения» весной, путем ограниченного протеолиза. Также требует повышения активности автолитических ферментов необходимость утилизации выполнивших свои функции белков и синтез новых белков. Наблюдаемое различие автолиза в мозге и печени может отражать также различия в уровне активности Са<sup>2+</sup>-зависимых процессов в этих тканях.

---

## ВЛИЯНИЕ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ И ГИСТОТОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ *IN VIVO* НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО ГОМЕОСТАЗА

*В.Г. Пахомова*

*Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, 660036, Российская Федерация, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50  
E-mail: vgrakhotova@mail.ru*

Данные экспериментов с различными способами моделирования гипоксического состояния в большинстве случаев говорят о гипоксии в целом, предполагая, что орган будет вести себя

одинаково вне зависимости от способа, которым вызвана гипоксия. Однако различия в способах индукции гипоксического состояния возможно приведут к различиям в изменении метаболизма на органном уровне. В нашей работе мы осуществили сравнение реакции печени крыс в условиях управляемой перфузии изолированного органа на два типа гипоксии – нормобарической и гистотоксической.

В работе использовали крыс-самцов Wistar массой 200–250 г., полученных в питомнике Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Новосибирская обл.). Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде, световой режим день/ночь по 12 часов. Животные забирались в эксперимент после 12 часов голодания с сохранением свободного доступа к воде. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными [1], отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей».

Операцию выделения органа и подключения его к установке поддержания искусственного гомеостаза проводили по стандартной схеме, разработанной В.П. Нефедовым с коллегами [2]. Печень перфузировали раствором Кребса – Рингера с добавлением лактата (1,7 мМ), хлорида аммония (5 мМ) и аспарагиновой кислоты (0,2 мМ), оксигенировали газовой смесью – кислород 95 %, углекислый газ 5 %. Животные были разделены на три экспериментальные группы: 1-я – печень выделялась у интактных животных; 2-я – животным до выделения органа вводили подкожно хлорид кобальта в концентрации 25 мг/кг за 25 минут до подключения изолированного органа к установке поддержания искусственного гомеостаза; 3-я – животные подвергались нормобарической гипоксии в течение 40 мин. Состояние нормобарической гипоксии у животных группы 3 создавали путем помещения интактных крыс в метаболическую камеру, в которую подавали газовую смесь следующего состава: кислорода – 14 %, азота – 86 %. В процессе эксперимента определяли: портальное давление, содержание кислорода, содержание углекислого газа и мочевины, молочной кислоты, глюкозы с последующим определением скорости выделения кислорода, углекислого газа и мочевины по артерио-венозной разнице. Измерения проводили на анализаторе газов крови и метаболитов ABL 800 FLEX (Radiometr, Дания), портальное давление (см вод. ст.) определяли прямым манометрическим измерением. Концентрацию мочевины в перфузате определяли с использованием набора Мочевина-Витал (Vital, Россия).

Сравнение показателей метаболизма печени животных, подвергавшихся разным видам гипоксического воздействия, свидетельствует о существовании различий между органным откликом в экспериментальных группах. В частности, для печени животных, подвергавшихся воздействию хлорида кобальта, характерны большие колебания уровней исследуемых параметров при повышенном в целом уровне давления, пониженном уровне потребления кислорода, выделения углекислого газа и лактата, в сравнении с экспериментальной группой, в которой животные подвергались гипобарической гипоксии. Также для печени животных этой группы характерны большой уровень потребления глюкозы и выделения мочевины.

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что хлорид кобальта приводит к нарушению механизмов аэробного энергетического обмена гепатоцитов, причем действие механизмов, обусловивших эти нарушения, сохраняется и после выделения органа из организма при условии обеспечения его искусственного гомеостаза с использованием биолого-технической системы. Следовательно, данные механизмы имеют органную локализацию, и их функционирование определяется внутриклеточной регуляцией.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кополдзе Р.А. Регламентация экспериментов на животных – этика, законодательства, альтернативы // Успехи физиологических наук. 1998. Т. 29. № 4. С. 74–89.
2. Нефедов В.П., Рупенко А.П., Валук В.А., Панов А.В., Вавилин В.А. Модификация действия адреналина на метаболизм тканей изолированной печени крыс при перфузии средами различного состава // Успехи гепатологии. 1990. Т. 15. С. 335–352.

# ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОЙ И ГИСТОТОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ *IN VITRO* НА ПАРАМЕТРЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ УПРАВЛЯЕМОЙ ПЕРФУЗИИ ИЗОЛИРОВАННОГО ОРГАНА

*В.Г. Пахомова, К.В. Шадрин, А.П. Рупенко, И.И. Моргулис*

*Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, 660036, Российская Федерация, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50  
E-mail: olikru@yandex.ru*

Как известно, гипоксия является одним из наиболее распространенных патологических состояний и может быть обусловлена воздействием на организм различных факторов. Реакция клеток организма на гипоксию связана, прежде всего, с индукцией HIF (гипоксия индуцируемый фактор), которая приводит к каскаду приспособительных реакций. При этом для моделирования гипоксических состояний в эксперименте используют хлорид кобальта, который является общепризнанным имитатором гипоксии.

Целью данной работы было изучение параметров жизнедеятельности изолированной перфузируемой печени крыс в условиях гипоксической и гистотоксической гипоксии.

Работу проводили на крысах-самцах Wistar массой 200–250 г., полученных в питомнике Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Новосибирская обл.), которые содержались и использовались в эксперименте в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» [1].

Перфузию изолированной печени осуществляли раствором Кребса – Рингера с добавлением лактата (1,7 мМ), хлорида аммония (5мМ) и аспарагиновой кислоты (0,2мМ) [2]. Перфузионная среда контрольной группы оксигенировалась газовой смесью, содержащей 95 % O<sub>2</sub> и 5 % CO<sub>2</sub>. Гипоксическая гипоксия индуцировалась перфузией средой, содержащей 14 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub> и 71 % N<sub>2</sub>. Гистотоксическая гипоксия органа индуцировалась путем добавления в перфузионный раствор, оксигенированный газовой смесью, содержащей 95 % O<sub>2</sub> и 5 % CO<sub>2</sub>, хлорида кобальта в концентрации 10<sup>-4</sup> М. Измеряли портальное давление, содержание кислорода, содержание углекислого газа и мочевины, молочной кислоты, глюкозы.

Полученные нами данные свидетельствуют о различиях механизмов развития гипоксической и гистотоксической гипоксии на органном уровне.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1. Кополадзе Р.А.* Регламентация экспериментов на животных – этика, законодательства, альтернативы // *Успехи физиологических наук.* 1998. Т. 29. № 4. С. 74–89.
- 2. Нефедов В.П., Рупенко А.П., Валук В.А., Панов А.В., Вавилин В.А.* Модификация действия адреналина на метаболизм тканей изолированной печени крыс при перфузии средами различного состава // *Успехи гепатологии.* 1990. Т. 15. С. 335–352.

---

## ИНДУКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА У *Brachidanio rerio*

*Л.А. Ромодин, Е.Н. Зарудная*

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23  
E-mail: rla2904@mail.ru; e-n-zarudnaya@mail.ru*

Окислительный стресс сопровождается рядом негативных биохимических изменений в организме, которые обусловлены действием цитотоксичных и мутагенных продуктов (в виде

малонового диальдигида (MDA), оснований Шиффа в комплексе с белком и ряда др.) на важные структуры клетки в результате возникновения свободных радикалов при истощении антиоксидантных систем организма [1].

Моделирование окислительного стресса проводили воздействием экзогенной перекисью водорода на взрослых рыб и эмбрионы (3 dpf (дня после оплодотворения)) *Brachidanio rerio*. Эффект оценивался по трем параметрам: выживаемость, частота сердечных сокращений (для мальков), содержание MDA. В работе было использовано 20 взрослых рыб и 30 эмбрионов 3 dpf. Группы формировали по принципу аналогов.

Целью данного исследования стало определение концентрации перекиси водорода, при которой в максимальной степени будут прослеживаться признаки окислительного стресса. В дальнейших исследованиях планировалось параллельно этой концентрации воздействовать различными антиоксидантами для выбора наиболее эффективного.

Первоначально была определена примерная летальная концентрация перекиси водорода, которая находилась в интервале между 5 и 10 мМ. Все концентрации в дальнейших экспериментах не превышали 5 мМ.

Определение MDA проводили стандартным тестом фирмы BIO-RAD при помощи планшетного спектрофотометра, для адекватности результатов было выбрано измерение количества MDA на единицу массы белка. Рыбы для анализа на MDA были подвергнуты эвтаназии разрушением головного мозга с предварительной инкубацией в холодной воде.

Десяти минутная инкубация взрослых рыб в 5 и 1 мМ растворах перекиси водорода привела к достоверному снижению концентрации MDA в гомогенате (0,81 и 0,79 нмоль MDA/1 мг белка, соответственно) по сравнению с контрольной группой (1,18 нмоль MDA/1 мг белка). Это может быть связано с активацией естественных механизмов защиты от окислительного стресса и согласуется с отдельными литературными данными [2, 3].

С увеличением концентрации перекиси водорода до 50 мкМ, 100, 200, 400 и 800 мкМ при десятиминутной инкубации взрослых рыб, максимальное содержание MDA было отмечено при концентрации раствора 400 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, составив 4,62 нмоль MDA/1 мг белка, но это увеличение относительно контроля находилось в пределах ошибки эксперимента.

Две группы эмбрионов 3 dpf были подвергнуты инкубации в растворах тех же концентраций перекиси водорода, что и взрослые рыбы (50 мкМ, 100, 200, 400 и 800 мкМ): 1-я группа – в течение 10 минут, 2-я – в течение суток. В результате 10-минутной инкубации у эмбрионов 3 dpf отмечалось достоверное увеличение частоты сердечных сокращений, в среднем, на 15 ударов в минуту по сравнению с контролем. В тоже время суточная инкубация к летальному эффекту эмбрионов не привела.

Экзогенная перекись водорода, являясь «активным метаболитом кислорода», несомненно оказывает свое действие на организм, что четко проявляется в учащении частоты сердечных сокращений у эмбрионов 3 dpf при 10-минутной инкубации. Но отсутствие явных проявлений окислительного стресса у взрослых рыб и эмбрионов 3 dpf при более длительной инкубации в растворах перекиси дает возможность говорить о ее стимулирующем действии на клетки организма.

Согласно ДИРЕКТИВЕ 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, эмбрионы *Brachidanio rerio* в возрасте, использованном при выполнении данных исследований, не признаются полноценными животными и на них не распространяются нормативно-правовые акты по защите прав лабораторных животных, а указанный способ эвтаназии взрослых рыб считается допустимым.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Трубочева О.А., Петрова И.В., Суслова Т.Е. Влияние перекиси водорода на регуляцию Ca<sup>2+</sup>-зависимой K<sup>+</sup>-проницаемости эритроцитов, опосредованную аднергическими рецепторами // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 4.
2. Евдокимов В.В., Туровецкий В.Б., Шмальгаузен Е.В., Муронец В.И. Подвижность сперматозоидов при воздействии перекиси водорода // Андрология и генитальная хирургия. 2015. Т. 1, С. 69–72.
3. Самохвалов В.А., Сметанина М.Д., Мусейкина Н.Ю., Мельников Г.В., Федотова О.В., Игнатов В.В. Влияние низкой концентрации перекиси водорода на метаболизм клеток крови // Биомедицинская химия. 2003. Т. 49. № 2. С. 122–127.

# ПСОРИАЗОПОДОБНЫЙ ЭФФЕКТ СОВМЕЩНОГО НАНЕСЕНИЯ РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ И 2,3,7,8-ТЕТРАХЛОР-ДИБЕНЗО-П-ДИОКСИНА НА КОЖУ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

С.Г. Рудяк<sup>1</sup>, М.А. Пальцев<sup>2</sup>, А.А. Пантелеев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, 4

<sup>2</sup>Российская академия наук, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр., 14

<sup>3</sup>Научно-исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1

E-mail: stanislav.rudyak@gmail.com

Диоксин (ТХДД), самый токсичный загрязнитель окружающей среды, вызывает у человека широкий спектр кожных патологий, включая хлоракне, выпадение волос, гиперпигментацию, кератодермию и т.д. Однако эффективные терапевтические подходы к ТХДД-индуцированному поражению кожных покровов отсутствуют. В силу высокой терапевтической активности ретиноидов в лечении заболеваний, клинически сходных с хлоракне (например, в терапии *acnevulgaris*), было сделано предположение о перспективности их использования при лечении кожных проявлений интоксикации ТХДД. Кроме того, некоторые признаки интоксикации диоксином напоминают симптомы дефицита витамина А, давая основания предполагать, что ретиноиды могут купировать молекулярные и клинические проявления токсического действия диоксина на кожу. Также известно, что в системе *in vitro* ретиноиды способны модулировать воздействие ТХДД на эпидермальные кератиноциты. Однако практически ничего не известно о взаимодействии ТХДД и ретиноидов в коже *in vivo*.

Для определения механизма влияния ретиноидов на ТХДД-индуцированные эффекты в кожных покровах нами были исследованы характер взаимодействия ТХДД и ретиновой кислоты (РК) в эпидермальных кератиноцитах человека линии N-TERT (*in vitro*) и коже безволосых мышей линии HRS/J, обладающих чувствительностью к кожному действию ТХДД, сходной с таковой у человека (*in vivo*).

*In vitro*, на культурах клеток N-TERT, ТХДД и РК в целом проявляют антагонистический эффект: в то время как ТХДД вызывает индукцию маркера дифференцировки TGM1 и ингибирует экспрессию маркера базальных кератиноцитов K15, РК ингибирует экспрессию TGM1 и вызывает индукцию K15. Совместное применение ТХДД и РК ведет к снижению соответствующих эффектов на уровне экспрессии генов. Вместе с тем ТХДД, РК, и комбинация ТХДД и РК оказывают ингибирующее воздействие на пролиферацию кератиноцитов в МТТ-тесте, давая основания предполагать, что пролиферативные эффекты ТХДД и РК регулируются через различные механизмы.

Для оценки действия диоксина и РК на кожные покровы *in vivo*, ТХДД (0,2 мкг в ацетоне) и 13-цис-ретиновая кислота (РК, общая доза 2,0 мг) наносились на кожу мышей линии HRS/J. Животные были разделены на четыре экспериментальных группы: ТХДД, РК, ТХДД+РК и контрольная группа. Образцы кожи животных отбирались на 7-й, 13-й, 19-й и 25-й день эксперимента. Нами было показано, что диоксин вызывает появление эпидермального кератина 1 в эпителии волосяного фолликула и индукцию экспрессии кератина 17 в эпидермисе. Кроме того, отмечается значительное снижение уровня белка ARNT (димеризационного партнера Ah рецептора), играющего значительную роль как в контроле нормальных функций кожи, так и в патогенезе некоторых кожных заболеваний. Изменения, отмеченные на молекулярном уровне, проявлялись и в изменениях в структуре кожи мышей: исчезновении придатков кожи, нарушении дифференцировки, корнизификации и десквамации в эпидермисе и его роговом слое.



Совместное нанесение ТХДД и РК на кожу безволосой мыши привело к появлению симптомов, не наблюдающихся при обработке ТХДД или РА по отдельности: индукции паракератоза, исчезновению гранулярного слоя эпидермиса, гипертрофии дермы, потере сальных желез и патологии волосяных фолликулов, акантозу (более выраженному, чем при обработке с РК), увеличению числа тучных клеток и их дегрануляции, активной инфильтрации нейтрофилов и формированию микро-абсцессов в эпидермисе. На молекулярном уровне совместное нанесение ТХДД и РА привело к подавлению экспрессии кератина 1 и значительной индукции экспрессии кератина 17. Практически все проявления совместного действия ТХДД и РК относятся к симптоматике псориаза.

Полученные данные выявляют новые аспекты активности ТХДД в кожных покровах и его роль в патогенезе некоторых кожных заболеваний, а также впервые характеризуют совместное действие ТХДД и ретиноидов на кожу. Характер этого действия позволяет сделать заключение о бесперспективности и даже потенциальной опасности применения ретиноидов в терапии кожных проявлений действия диоксина. Вместе с тем экспозиция мышей линии HRS/J совместному действию ТХДД и РК может использоваться в качестве новой лабораторной модели псориаза и оценки эффективности действия противопсориазных препаратов.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 14–25–00146 и РФФИ № 13–04–40195-Н.*

---

## **ОЦЕНКА БИОАКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,4-ТРИАЗИНОХИНАЗОЛИН-2-ОНОВ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМИ БИОСЕНСОРАМИ С ПОСЛЕДУЮЩИМ ПОИСКОМ ВЗАИМОСВЯЗИ «СТРУКТУРА-ЭФФЕКТ»**

*С.Л. Сафронюк<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, 295006, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7  
E-mail:safronuksergey@gmail.com*

При создании и поиске биологически активных веществ используют различные подходы прогнозирования их эффекта. Однако комбинирование современных технологий виртуального скрининга с направленным синтезом химических соединений не всегда удается получить вещество целевого действия. В результате возникает необходимость оценки биологической активности полученных субстанций методами *in vitro* и *in vivo*. Одним из подходов к анализу биоэффекта может выступать такой феномен как биолюминесценция – весьма перспективная аналитическая технология оценки биоактивности веществ различной природы и химического строения.

Целью работы являлось произвести оценку биологической активности производных 1,2,4-триазинохиназолин-2-онов (ТQ) люминесцентными биосенсорами на основе бактерий Черного и Азовского морей. Проанализировать связь результатов скрининга биоэффекта ТQ с молекулярной структурой исследуемых субстанций.

В качестве исходных соединений исследовали 42 ТQ, синтезированные на кафедре фармацевтической химии, Запорожского государственного медицинского университета, Украина. При анализе ТQ использовали штаммы бактерии *Vibrio harveyi* Ms1 и *Photobacterium leiognath* i Sh1, выделенные, соответственно, из Черного и Азовского морей, входящие в состав коллекции светящихся прокариотных микроорганизмов Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского». Культивирование проводили с использованием микробиологических подходов на жидких и плотных питательных средах (Hi Media Laboratories Pvt.

Limited, Индия). Скрининг биоактивности исследуемых образцов изучали по острому и хроническому действию на люминесцентные биосенсоры. Кинетика биолюминесценции регистрировалась в автоматическом режиме с помощью биохемилюминометра БХЛ-06 (Н. Новгород, Россия).

Скрининга биологической активности с использованием люминесцентного биосенсора на основе *P. leiognathi* Sh1 показал, что все ТQ можно разделить на 4 группы по уровню токсичности и/или действующей концентрации изменяющей (для исследуемых ТQ-ингибирующей) интенсивность люминесценции на 50 % ( $ЭK_{50}$ ). «Нейтральные вещества» –  $ЭK_{50}$  свыше 0,25 мг/мл, «слабые ингибиторы» –  $ЭK_{50}$  от 0,175 мг/мл до 0,25 мг/мл, «умеренные ингибиторы» –  $ЭK_{50}$  от 0,05 мг/мл до 0,1 мг/мл, «сильные ингибиторы» –  $ЭK_{50}$  меньше 0,025 мг/мл. Сходные данные оценки биологического действия ТQ показал штамм *V. harveyi* Msl. Корреляция результатов скрининга составила 0,846 для обоих биосенсоров.

Сравнение биологического эффекта и молекулярной структуры ТQ выявило ряд зависимостей. В группу «сильные ингибиторы» с наиболее выраженной способностью к снижению люминесценции бактерий штаммов *V. harveyi* Msl и *P. Leiognathi* Sh1 вошли производные 2-((9- $R_1$ -10- $R_2$ -3-(4- $R_3$ -фенил)-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)тио) уксусной кислоты. В независимости от заместителей  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  сила токсического действия составила  $80 \pm 10$  % от контрольных значений биолюминесценции, при концентрации вещества в пробе  $\geq 0,025$  мг/мл. Группы «нейтральные вещества», «слабые ингибиторы» и «умеренные ингибиторы» состояли из различных химических модификаций 1,2,4-триазино-[2,3-с]хиназолин-6-илтиоацетамидов (ТQA). Снижение токсического воздействия ТQA наблюдали при удлинении углеродной цепи в радикалах на одну метильную или метокси группу. Среди ТQA увеличение токсического воздействия наблюдалось при замещении атомов водорода в ацетамидном участке на фармакофорные группы или их комбинации с циклическими, ароматическими или гетероциклическими фрагментами. Замещение водорода на атом галоген в 9 и/или 10 положении сопровождалось снижением свечения. Прирост токсического эффекта производных ТQA выявили при изменении в молекуле числа галогенов от 1 до 6 единиц, с учетом индивидуальных физико-химических свойств атомов в ряду йод>бром>хлор>фтор.

---

## **КРОВЕТВОРЕНИЕ В МЕЗОНЕФРОСЕ, ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКЕ ЖАБЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) В ЛИЧИНОЧНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ**

*Д.Р. Светашева, М.П. Грушко*

*Астраханский государственный технический университет, 414056, Российская Федерация,  
г. Астрахань, ул. Татищева, 16  
E-mail: svetashadr@yandex.ru*

Исследование проводилось на сериях срезов личинок зеленой жабы (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) на всех стадиях личиночного развития, приготовленных и окрашенных по общепринятым методикам [1].

У личинок жабы зеленой (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) с первых дней развития почка выполняла кроветворную функцию, о чем свидетельствует наличие молодых бластных и созревающих клеток крови. Основная масса среди формирующихся элементов крови приходилась на клетки эритропоэтического (70 %) и гранулопоэтического рядов (21 %). На клетки агранулоцитопозитического ряда приходилось 8 %.

На второй неделе развития личинки в мезонефросе наблюдались зрелые почечные тельца и каналы, а также их активное образование. Число почечных телец в среднем составило 8

$\pm 1,2$ , они имели краниальную локализацию. Число канальцев в мезонефросе, в среднем, к 12-м суткам составляло  $270 \pm 9,1$  шт. Доля клеток эритропоэтического ряда составляла 61 %, гранулоцитопоэтического – 18 %, и агранулоцитопоэтического – 13 %. Половина всех эритроцитов (50 %) патологичны – пойкилоцитоз. Просветы некоторых канальцев были заполнены белком.

На 16–20-е сутки почка была полностью сформирована. Дифференцировались клетки эритропоэтического (60 %), гранулоцитопоэтического (30 %) и агранулоцитопоэтического (10 %) рядов. У 15 % эритроцитов была отмечена полихромазия [2].

С первых дней развития печень личинок жабы зеленой (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) выполняет кроветворную функцию. Орган имел слабую балочную структуру. В межклеточном пространстве обнаружены элементы крови эритропоэтического (31,7 %), гранулоцитопоэтического (65,3 %) и агранулоцитопоэтического (3 %) рядов. Отмечены эритроциты с патологиями – 17 % (пойкилоцитоз), а также присутствие зрелых клеток крови, что объясняется активным экстра- и интраваскулярным кроветворением в печени.

Печень на 8–12-й день имела выраженную балочную структуру. Увеличилось процентное соотношение клеток белой крови (лимфоцитопоэтический ряд 8,5 %). Клетки эритропоэтического ряда группировались в эритробластические островки, состояли из клеток на разных стадиях развития. На срезах были обнаружены гранулы гемосидерина.

К 20-м суткам личиночного развития печень головастика жабы имела выраженную сосудистую структуру. В этот период сосуды печени были сильно расширены и переполнены форменными элементами крови. Элементный состав крови двадцатидневной личинки жабы обыкновенной отражается в неравном процентном соотношении: гранулоциты – 19 %, агранулоциты – 5 и 3,5 % клеток эритропоэтического ряда. В печени была отмечена значительная инфильтрация лимфоцитами.

У жабы зеленой (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) в личиночный период развития печень и почки являлись универсальными органами гемопоэза. В почках доминировал процесс пролиферации и дифференцировки клеток эритропоэтического ряда, а в печени – гранулоцитопоэтического. В исследованных формирующихся органах были отмечены процессы нарушения кровообращения и обмена веществ.

Исследования показали, что у личинок жабы селезенка обнаруживается на ранних стадиях развития. В первые сутки после вылупления, селезенка личинок расположена в каудальном направлении в петлях кишечника под зачатком мезонефроса. Формирующийся орган в первые сутки личиночного развития представлял собой небольшое овальное образование, состоящее из плотно расположенных мезенхимных клеток. На этой стадии среди мезенхимных клеток были отмечены единичные формирующиеся клетки красной крови – эритробласты. На вторые сутки развития личинки появляются единичные клетки лимфоцитопоэтического ряда: лимфобласты и пролимфоциты. На 5–6-е сутки в петлях молодой ретикулярной ткани выявляются очаги размножающихся кроветворных клеток эритропоэтического, лимфоцитопоэтического, моноцитопоэтического и тромбоцитопоэтического рядов. Все клетки располагались хаотично. Происходит закладка просвета первичных сосудов. На 9-е сутки в селезенке личинок была заметна разветвленная сеть щелей, что можно считать «прообразом» формирующейся сосудистой системы органа [3]. Мезенхимный ретикулум, расположенный между сосудами, уже в большей степени к этому возрасту был замещен дифференцирующимися гемопоэтическими клетками, ретикулярными клетками, макрофагами. Снаружи орган покрыт тонкой соединительнотканной капсулой. В поверхностном слое органа редко определялись идущие от капсулы в глубь закладки тяжи вытянутых клеток – развивающиеся трабекулы. В этот период добавляется гранулоцитопоз.

На 12-е сутки личиночного развития селезенка приобретает слабовыраженную дифференцировку на белую и красную пульпу, при этом участки белой и красной пульпы не имели четкого места локализации. К 20-му дню развития личинки жабы обыкновенной селезенка полностью сформирована, строма органа подразделяется на красную и белую пульпу. В этот период в селезенке доминирует лимфоцитопоз.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой, 20-е изд. М.: Медицина, 1982. 304 с.
2. Светашева Д.Р., Грушко М.П. Формирование почки у амфибий в личиночный период развития на примере Жабы зеленой (*Bufo viridis*, 1768) // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 2 [Электронный ресурс]: <http://www.science-education.ru/116-12288>.
3. Волкова О.В., Пекарский М.И. Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека. М.: Медицина, 1976. 416 с.

---

## ВЕРИФИКАЦИЯ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ МОДЕЛИ ДИАБЕТА 2-го ТИПА НА КРЫСАХ ЛИНИИ ВИСТАР

Ю.С. Сидорова, В.А. Шипелин, В.К. Мазо, А.А. Кочеткова

Научно-исследовательский институт питания, 109240, Российская Федерация, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14,  
E-mail: [mailbox@ion.ru](mailto:mailbox@ion.ru); [sidorovaulia28@mail.ru](mailto:sidorovaulia28@mail.ru); [v.shipelin@ya.ru](mailto:v.shipelin@ya.ru); [mazo@ion.ru](mailto:mazo@ion.ru); [kochetkova@ion.ru](mailto:kochetkova@ion.ru)

Медикаментозные вмешательства при моделировании сахарного диабета 2-го типа (СД2) априори не могут удовлетворительно отражать процесс развития этого заболевания. Однако такие модели СД2 несомненно имеют важное значение для оценки эффективности лекарственных препаратов и природных биологически активных соединений в терапии заболевания. Для медикаментозного воспроизведения СД2, как известно, широко используется введение животным стрептозотоцина (СТЦ), представляющего собой N-нитрозопроизводное глюкозамина. Действие стрептозотоцина выражается деструкцией панкреатических бета-клеток островков Лангерганса. СТЦ переносится в бета-клетки поджелудочной железы GLUT-2 транспортером и вызывает алкилирование ДНК. Последующая активация поли(АДФ-рибоза)-полимеразы ведет к истощению НАД<sup>+</sup>, снижению клеточного уровня АТФ и последующему ингибированию продукции инсулина. В зависимости от дозы и способа введения СТЦ (внутрибрюшинного или внутривенного) моделируются состояния углеводного обмена, которые в той или иной степени соответствуют различным клиническим типам сахарного диабета. Наряду с моделью стрептозотоцинового СД2 разработаны и используются альтернативные модели на грызунах, потребляющих рационы с высоким содержанием фруктозы.

Цель работы: верификация биологической медикаментозной модели сахарного диабета 2-го типа на крысах линии Вистар.

В рамках поставленной задачи было проведено три эксперимента *in vivo* на крысах-самцах линии Вистар. Животные на протяжении всех экспериментов получали гранулированный корм *ad libitum*. Первый эксперимент – 60 животных с исходной массой тела  $171 \pm 2$  г. разделили на 2 группы: контрольную № 1 ( $n=10$ ) и опытную № 1 ( $n=50$ ). Животные опытной группы на протяжении двух первых недель эксперимента вместо воды получали **20 %-ный раствор фруктозы**, далее воду питьевую. На 15-е сутки эксперимента животным опытной группы № 1 со средней массой тела  $232 \pm 6$  г однократно внутрибрюшинно делали инъекцию СТЦ в дозе **60 мг/кг массы** тела животного.

Второй эксперимент – 50 крыс с исходной массой тела  $199 \pm 1$  г рандомизированно разделили на 2 группы: контрольную № 2 ( $n=10$ ) и опытную № 2 ( $n=40$ ). Животные опытной группы № 2 на протяжении двух первых недель эксперимента вместо воды получали **20 %-ный раствор фруктозы**. На 15-е сутки эксперимента животным опытной группы № 2 со средней массой тела

**257±8 г** однократно внутривенно делали инъекцию раствора СТЦ в дозе **40 мг/кг** массы тела животного.

Третий эксперимент – 100 крыс с исходной массой тела  $171\pm 1$  г разделили на 2 группы: контрольную № 3 ( $n=10$ ) и опытную № 3 ( $n=90$ ). Животные опытной группы на протяжении 4 первых недель эксперимента вместо воды получали **10 %-ный раствор фруктозы**. На 31-е сутки эксперимента животным опытной группы № 3 со средней массой тела **325±4 г** однократно внутривенно делали инъекцию СТЦ в дозе **60 мг/кг массы** тела животного.

На 7-е сутки после введения СТЦ во всех экспериментах у животных контрольных и опытных групп отбирали кровь из хвостовой вены для определения содержания глюкозы в крови с помощью портативного электрохимического глюкометра. Диабетическими считали животных, уровень глюкозы у которых был не ниже 11,0 ммоль/л.

В первом эксперименте смертность животных на 5-е сутки после введения СТЦ достигла 70 % (35 животных из 50). Средний уровень глюкозы крови у животных контрольной группы № 1 составил  $7,0\pm 0,4$  ммоль/л и отличался статистически достоверно ( $p\leq 0,01$ ) от значения данного показателя у животных опытной группы № 1 ( $n=15$ ), равного  $27,0\pm 3,1$  ммоль/л. На протяжении 7 суток второго эксперимента летальность среди крыс отсутствовала. Результаты определения глюкозы крови показали: содержание у животных контрольной группы № 2 составило  $6,6\pm 0,4$  ммоль/л, из опытной группы № 2 к диабетическим животным с уровнем глюкозы более 11 ммоль/л можно было отнести 50 % животных (20 из 40), у остальных 20 крыс уровень глюкозы был в пределах нормы. В третьем эксперименте, также как и во втором, к 7-м суткам отсутствовала смертность среди животных. Уровень глюкозы крови животных контрольной группы № 3 составил  $6,7\pm 0,2$  ммоль/л. Согласно данным, полученным в ходе определения концентрации глюкозы в крови крыс опытной группы № 3, было отобрано 82 % животных (74 из 90) в группу диабетических животных (средний уровень глюкозы  $17,3\pm 0,8$  ммоль/л).

Полученная в ходе третьего эксперимента биомодель СД2 с правильным соотношением параметров веса животных и дозировкой препарата СТЦ отличается высоким выходом животных с гипергликемией и может быть использована для дальнейшей оценки эффективности исследуемых биологически- активных соединений.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14–36–00041).*

---

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО АКТИВИЗАТОРА ПОЧВЕННОГО ПЛОДОРОДИЯ В КУЛЬТУРАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ**

***Е.И. Симонович***

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского,  
344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: elena\_ro@inbox.ru*

Известно, что урожайность сельскохозяйственных культур и интенсивность микробиологических процессов, протекающих в почве, находятся в прямой зависимости, поэтому большое значение приобретают способы активизации биологических процессов в ней.

Целью данного эксперимента, проводимого на территории Ботанического сада ЮФУ, являлось выяснение действия биологического активизатора почвенного плодородия в сравнении

с минеральным удобрением на рост и развитие лекарственных растений. В этой связи в задачи исследований входило изучить морфометрические показатели развития лекарственных растений при внесении различных видов удобрений.

Основным препаратом, применяемым в опытах в качестве биологического активизатора почвенного плодородия, было микробиологическое удобрение «Белогор», так же применялось минеральное удобрение «Покон». «Белогор» содержит комплекс молочно-кислых, пропионово-кислых бактерий, дрожжи, культуры микроорганизмов родов *Bacillus* и *Pseudomonas*, а также бактериальные продукты метаболизма, макро- и микроэлементы, необходимые для жизнедеятельности микроорганизмов и полезные для развития растений. Состав «Белогора»: общий азот – 1,4 %, общий фосфор – 0,9 %, общий калий – 1,5 %, Zn – 55 мг/кг, Mn – 31 мг/кг, Mg – 9,6 мг/кг, Fe – 5,7 мг/кг, Cu – 7,1 мг/кг, Se – 1,0 мг/кг, B – 6,0 мг/кг, Mo – 2,7 мг/кг.

Состав «Покона»: N=7 % (2,9 % – нитратный; 1,8 % – аммиачная форма; 2,3 % – в форме мочевины), P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> водорастворимый – 3 %, K<sub>2</sub>O водорастворимый – 7 %, B – 0,02 %, Cu – 0,004 %, Fe – 0,04 %, Mn – 0,02 %, Mo – 0,002 %, Zn – 0,004 %.

Изучение эффективности данных препаратов проводили по схеме, включающей следующие варианты: 1– контроль; 2 – концентрат микроорганизмов «Белогор»; 3 – жидкое минеральное удобрение «Покон» с микроэлементами. Повторность вариантов – 3-кратная. Препараты вносили 2 раза в мае. Полив проводили поверх растений раствором удобрений (100 мл/10л воды) из расчета 400 л/га. Растения контрольного участка поливали таким же количеством воды. В качестве морфометрических показателей изучалась высота растений и диаметр куста. В результате многолетних исследований (2009–2015 гг.) на черноземах обыкновенных карбонатных при возделывании эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* Moench.) и лакфиоли (*Cheiranthus cheiri*) было установлено, что различные виды препаратов (биологический активизатор почвенного плодородия «Белогор» и минеральное удобрение «Покон») оказали положительное влияние на морфометрические показатели растений через 1 и 3 месяца после их внесения. Наиболее эффективное действие на изменение основных морфологических показателей лекарственных растений оказал биологический активизатор почвенного плодородия «Белогор», что объясняется усилением минерализации гумуса.

Количество элементов питания в почве увеличивается, соответственно улучшается корневое питание растений и повышается урожайность сельскохозяйственных культур. Таким образом, внесение в почву под эхинацею пурпурную и лакфиоль биологического активизатора почвенного плодородия и минерального удобрения положительно влияет на развитие и рост растений и приводит тем самым к увеличению продуктивности и формированию большей фитомассы [1–4].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гончарова Л.Ю., Симонович Е.И., Сахарова С.В., Шиманская Е.И. Влияние некоторых удобрений («Белогор», «Лигногумат» и «Покон») на урожайность эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* Moench.) и отдельные показатели чернозема обыкновенного // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2012. № 4. С. 62–65.
2. Симонович Е.И., Гончарова Л.Ю. К вопросу применения удобрений в культуре эхинацеи пурпурной // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 1. С. 58–59.
3. Симонович Е.И., Гончарова Л.Ю., Шиманская Е.И. Влияние удобрений на содержание некоторых тяжелых металлов и биологическую активность в черноземе обыкновенном при возделывании Эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* Moench.) // Фундаментальные исследования. 2012. № 9 (ч. 1). С. 69–72.
4. Симонович Е.И., Гончарова Л.Ю., Шиманская Е.И. Изменение агрохимических показателей чернозема обыкновенного и урожайности эхинацеи пурпурной под влиянием удобрений // Доклады Россельхозакадемии. 2013. № 6. С. 45–47.

Работа выполнена в рамках проекта ЮФУ 213.01–2015/003ВГ.

# ВЛИЯНИЕ КАЛЬЦИЯ ФОЛИНАТА НА АКТИВНОСТЬ МОНООКСИГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВНЕПЕЧЕНОЧНОМ ХОЛЕСТАЗЕ

*И.П. Сутько, И.В. Зверинский*

*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, 230030, Республика Беларусь, г. Гродно, бул. Ленинского комсомола, 50  
E-mail: irina\_sutsko@list.ru*

Высокое содержание желчных кислот в желчных протоках выше положения лигатуры при экспериментальном внепеченочном холестазае наряду с многочисленными нарушениями приводит к нарушению функциональной активности цитохром Р450-зависимой монооксигеназной системы (МОС) печени, которая играет ключевую роль в биотрансформации большинства ксенобиотиков, в том числе лекарств у человека, и ряда эндогенных соединений, обеспечивая сохранение и поддержание гомеостаза в условиях разнообразных химических воздействий на живой организм [1]. В то же время, отдельные изоформы цитохрома Р450 участвуют в детоксикации желчных кислот [2]. Все это свидетельствует о необходимости предупреждения угнетения ферментной активности цитохром Р450-зависимой МОС печени при холестазае.

Учитывая морфологическую и функциональную связь монооксигеназ с мембранами эндоплазматического ретикулума гепатоцитов и мембраностабилизирующее действие фолатов, а также способность фолатов участвовать в генерации компонентов МОС (гема, белков, фосфолипидов) и их возможность способствовать регенерационным и репаративным процессам, мы изучили влияние 5-формилтетрагидрофолиевой кислоты (5-формил-ТГФК), способной вовлекаться в пути обмена фолатов без участия дигидрофолатредуктазы, а также выполняющей регулируемую роль в метаболизме одноуглеродных групп, на функцию монооксигеназ печени крыс при экспериментальном внепеченочном холестазае. В исследовании использовали 5-формил-ТГФК в виде ее кальциевой соли – кальция фолинат (Лейковорин-ЛЭНС, Россия).

Эксперимент выполнен на крысах-самцах весом 200–250 г. У опытных животных внепеченочный холестазаз создавали путем перевязки общего желчного протока на 3–5 мм ниже места слияния долевых протоков печени под общим эфирным наркозом [3]. Контролем служили ложнооперированные животные, у которых общий желчный проток оставляли интактным. Опытные животные были разбиты на две группы. Первой группе вводили кальция фолинат (в/б, 17,5 мг/кг) в течение 7 дней, животные второй группы и контроль в это же время получали равный объем раствора натрия хлорида изотонического 0,9 %.

Установлено, что перевязка общего желчного протока у крыс привела к снижению содержания общего пула цитохромов Р450 (на 58 %,  $p < 0,05$ ) и  $b_5$  (на 38 %,  $p < 0,05$ ) в микросомальной фракции печени крыс, а также оксидоредуктазной активности цитохром Р450-зависимой МОС гепатоцитов: снизились скорости окисления НАДФН (на 33 %,  $p < 0,05$ ), активности НАДФН и НАДН феррицианидредуктаз (соответственно, на 31 и 22 %,  $p < 0,05$ ), НАДФН и НАДН цитохром С-редуктаз (соответственно, на 32 и 17 %,  $p < 0,05$ ). Снижение содержания цитохромов Р450 и  $b_5$  и оксидоредуктазной активности МОС сопровождалось угнетением каталитической активности изоформ цитохрома Р450.

5-Формил-ТГФК в остром периоде экспериментального внепеченочного холестаза предупреждал угнетение метаболической активности отдельных изоформ цитохрома Р450. Показано, что у крыс, получавших кальция фолинат, активность аминопирин N-деметиلاзы (цитохром Р450 2С-зависимая реакция) была заметно выше (на 69 %,  $p < 0,05$ ) ее уровня у животных, не получавших лечения. Активность цитохром Р450 2Е1-зависимого О-деметилирования метанола при назначении кальция фолината поддерживалась на уровне контроля ( $p > 0,05$ ), что на 27 %

превышало активность фермента экспериментальной группы, которой не назначали лейковорин. В наибольшей степени при холестатическом поражении 5-формил-ТГФК проявляла защитное действие в отношении изоформ цитохрома P450 2B1/2, предупреждая снижение активности пентоксирезорурфин О-деалкилазы (на 87 % выше относительно крыс, не получавших лейковорин,  $p > 0,05$ ). Кальция фолинат не оказывал влияния на активности цитохром P450 3A-зависимого N-деметилирования этилморфина и 2E1-зависимого *n*-гидроксилирования анилина. Содержание общего пула цитохрома P450 при этом не изменялось.

Таким образом, полученные нами данные о предупреждении кальция фолинатом угнетения активности отдельных изоформ цитохрома P450 при холестатическом поражении печени позволяют судить о защитном действии 5-формил-ТГФК на функцию МОС в остром периоде холестаза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Посохова Е.А.* Микросомальная ферментная система и патология печени // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1996. Т. 59. № 4. С. 73–79.
2. *Chen J.* The role of CYP3A4 in the biotransformation of bile acids and therapeutic implication for cholestasis // *Ann. Transl. Med.* 2014. Vol. 2. № 1. P. 1–9.
3. *Кизюкевич Л.С., Кузнецов О.Е., Кизюкевич И.Л., Мармыш В.Г.* Показатели эндогенной интоксикации в остром периоде экспериментального холестаза // Вести НАНБ. Серия мед. наук. 2007. № 1. С. 22–25.

---

## РОЛЬ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИНАПСОВ В РАЗВИТИИ МОЗГА

*А.Г. Сухов*

*Южный федеральный университет, Академии биологии и биотехнологии, Лаборатория экспериментальной нейробиологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: w701@krinc.ru*

Результаты выполненных нами электронно-микроскопических, иммуногистохимических, нейрофизиологических и нейрохимических исследований электрических синапсов (ЭС) свидетельствуют об их важной роли в эндогенном геном-регулируемом ритмогенезе и структурно-функциональной организации коры в форме колонок. Согласно полученным нами данным, ЭС присутствуют во всех слоях корковых колонок соматической коры крыс в зоне проекции вибрисс, где каждая вибрисса на уровне IV слоя имеет индивидуальное представительство в форме обособленной морфофункциональной группировки нейронов, так называемого бочонка или барреля. При этом наибольшее количество дендро-дендритных ЭС наблюдается у звездчатых тормозных нейронов бочонков, потенциал-зависимые  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ -каналы которых способны к генерации пейсмекерного ритмогенеза. Наличие межклеточных ЭС у нейронов одного бочонка является структурной основой электротонической синхронизации пейсмекерной активности отдельных клеток в общую ритмическую активность отдельной колонки, которая блокировалась в наших опытах локальным введением блокатора ЭС – карбенексолона.

По нашему мнению, ритмическая активность является генетически заданным свойством всех живых клеток, в том числе, и у предшественников нервных и глиальных клеток на ранних стадиях эмбрионального развития, когда еще нет клеточной дифференциации клеток и химических синапсов, а ЭС уже хорошо выражены. По литературным данным, ЭС играют важную роль на всех стадиях эмбриогенеза, присутствуя уже на стадии фолликула для обмена различными сигнальными молекулами яйцеклетки с организмом матери. После оплодотворения яйцеклетки и начала ее деления ЭС выявлены на стадии появления 8 стволовых клеток, которые затем преобразуются в многоклеточную трехмерную структуру схемы тела зародыша. На стадии начала нейрогенеза коры ЭС выявляются начиная с E8–E16 дня внутриутробного развития. Ведущую



роль в закладке корковых колонок играет радиальная глия, созревание которой начинается на 1–2 дня раньше, чем дифференцировка будущих нейронов. В постнатальном периоде наибольшее число разных ЭС наблюдается в первую неделю после рождения во время формирования бочонков, но только при поступлении к ним тактильной афферентации, что говорит об участии не только генетических, но и эпигенетических механизмов в их развитии.

---

## РЕГУЛЯТОРНЫЕ БЕЛКИ AGR В РАННЕМ РАЗВИТИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*А.П. Сысоева<sup>1</sup>, О.А. Романова<sup>1</sup>, М.А. Пальцев<sup>2</sup>, А.А. Пантелеев<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, 123182, Российская Федерация, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1*

*<sup>2</sup>Российская Академия Наук, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский пр., 14  
E-mail: a.a.pantel@gmail.com*

Белок Agr2 относится к семейству дисульфидизомераз эндоплазматического ретикулума и содержит активные цистеиновые домены, участвующие в формировании дисульфидных связей в молекуле муцинов – ключевых белков в составе секрета слизистых эпителиев. Agr2 экспрессируется в бокаловидных клетках эпителия кишечника и играет ключевую роль в контроле секреции муцина 2 – основного компонента, отвечающего за вязкость слизи и выполняющего многие регуляторные функции в контроле активности эпителия кишечного тракта. Роль генов семейства Agr2 в развитии и функционировании других муцин-продуцирующих эпителиальных тканей мало изучена. Полученные на настоящий момент данные позволяют предположить, что Agr2 также может играть роль в контроле функций эпителия дыхательного тракта (носовая полость, трахея, бронхи, легкие), а также в патогенезе некоторых заболеваний дыхательной системы. Однако в настоящее время о роли белка Agr2 в секреции муцина слизистыми железами и клетками дыхательного эпителия известно очень мало.

Процесс продукции муцина чрезвычайно интересен с точки зрения практической медицины, поскольку муцин является важным компонентом неспецифической защиты организма, и нарушение его синтеза может быть ключевым звеном патогенеза некоторых заболеваний дыхательной системы. Исследование формирования муцин-продуцирующей системы на различных стадиях индивидуального развития млекопитающих может послужить эффективной моделью для выявления молекулярных механизмов, контролирующих ее работу в норме и патологии.

Цель работы – выявление стадий эмбрионального развития дыхательного эпителия мышей (трахея), адекватно отражающих изменения в его физиологии. Оценка уровней экспрессии белка Agr2 и муцинов (Muc2 и Muc5AC) на соответствующих стадиях эмбриогенеза методом иммунофлуоресценции. Сравнение морфологии эпителия трахеи и экспрессии муцинов у мышей дикого типа и у Agr2-дефицитных животных.

В ходе экспериментов выявлено, что экспрессия белков Agr2, Muc5ac и Muc2 у мышей дикого типа появляется на поздних стадиях эмбрионального развития (E18.5). Вероятнее всего, это связано с формированием защиты дыхательной системы организма от воздействия патогенов и подготовкой к началу ее активного функционирования после рождения.

Для особей дикого типа было показано, что локализация экспрессии муцинов в развивающемся дыхательном эпителии совпадает с локализацией белка Agr2. Кроме того, муцины начинают экспрессироваться одновременно с Agr2. Как муцины, так и Agr2 были обнаружены только в секреторных (бокаловидных) клетках трахеального эпителия, тогда как в базальных и реснитчатых клетках этот белок не экспрессируется. Эти результаты

подтверждают, что Agr2 является необходимым фактором нормальной секреции муцинов в дыхательном эпителии.

Экспрессия муцинов и Agr2 постепенно увеличивается в ходе завершающих стадий эмбрионального развития, достигая максимума к моменту рождения, и сохраняясь на высоком уровне в постнатальном периоде, что, очевидно, связано с защитной функцией муцин-продуцирующего комплекса дыхательной системы.

Уровень экспрессии Agr2 зависит от степени дифференцировки дыхательного эпителия. Выраженный позитивный сигнал появляется только после формирования секреторных клеток эпителия трахеи, тогда как на более ранних стадиях развития (E14.5) экспрессии Agr2 у особей дикого типа выявлено не было.

Экспрессия муцинов в тканях Agr2-дефицитных мышей (-/-) не была выявлена ни на эмбриональных стадиях, ни на постнатальном этапе развития. Это подтверждает, что в отсутствие Agr2 нарушаются процессы компактизации муцинов и их последующей секреции бокаловидными клетками дыхательного эпителия, как на поздне-эмбриональных стадиях развития, так и после рождения. Этот эффект объясняет дисфункцию дыхательной системы у взрослых мышей, нокаутных по гену Agr2, и подтверждает ключевую роль белка Agr2 в процессинге муцинов.

*Работа поддержана грантами РФФИ № НК 13-04-40195-Н "Регенерация у млекопитающих: поиск механизмов, утраченных в ходе эволюции" и РФФИ № 14-25-00146 «Механизмы регенерации эпителиальных тканей человека и поиск методов управления ими с целью использования в регенеративной медицине, объемной реконструкции тканей in vitro и в фармакологическом тестировании».*

---

## **ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПРОБИОТИКОВ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ**

*Е.П. Теркун<sup>1</sup>, А.А. Кушнерова<sup>2</sup>, М.А. Кожухова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Кубанский государственный технологический университет», 350072, Российская Федерация, г. Краснодар, ул. Московская, 2*

<sup>2</sup>*Кубанский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 350063, Российская Федерация, г. Краснодар, ул. Седина, 4*

*E-mail: terkun\_85@mail.ru, annakozh@yandex.ru, marinakozh@yandex.ru*

Микроорганизмы-пробиотики, являясь представителями нормальной микрофлоры кишечника, оказывают разноплановые положительные эффекты на состояние здоровья человека: улучшают функционирование пищеварительной системы, повышают иммунитет, нормализуют углеводный обмен, способствуют усвоению кальция, железа, магния, оказывают противовоспалительное и антиаллергенное действие. К классическим пробиотикам относятся лакто- и бифидобактерии. Под действием неблагоприятных экологических факторов, стрессов, антибиотиков количество полезных микроорганизмов в кишечнике сокращается, что может послужить причиной различных заболеваний. Одним из способов восстановления нормального баланса микрофлоры кишечника является регулярное употребление продуктов питания и БАДов, содержащих живые пробиотические культуры.

В биотехнологии получения препаратов пробиотиков, в процессе их хранения и применения все более широкое использование находят отрицательные температуры, что обуславливает необходимость изучения криостабильности физиологически значимых микроорганизмов. В связи с этим нами исследовано влияние замораживания и низкотемпературного хранения на выживаемость молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий в средах на основе молока и молочной сыворотки с растительными добавками (тонкоизмельченная мякоть топинамбура, моркови и свеклы).

Образцы ферментировали пробиотической закваской закваской АВУ-3 (Дания), представляющей собой консорциум микроорганизмов, затем замораживали до  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  и хранили в течение 6 месяцев. Установлено, что в комбинированных средах, содержащих растительные компоненты, лакто- и бифидобактерии проявляют более высокую криостабильность, чем в молоке и сыворотке без добавок. Криозащитный эффект усиливался с повышением концентрации растительного компонента с 10 до 50 % и был наиболее выражен в образцах с добавлением топинамбура.

Полученные данные позволяют сделать вывод о наличии криопротекторных свойств у исследованных растительных добавок. Результаты исследований имеют теоретическое значение для криобиологии и открывают новые возможности для создания продуктов питания, способных сохранять пробиотическую активность в течение длительного времени.

---

## ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ КЛЕТОК И КЛЕТОЧНЫХ ОРГАНЕЛЛ РОДИТЕЛЬСКИХ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

*А.В. Усатов, Г.М. Федоренко, О.А. Усатова*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: usatova@mail.ru*

Исследование структурных и ультраструктурных компонентов листовой ткани и клеток, а также энергетических органелл – пластид и митохондрий представляет интерес для выяснения их изменчивости в гибридной селекции сельскохозяйственных культур и роли в эффекте гетерозиса. Имеющиеся на сегодня данные литературы по этой тематике не позволяют сделать однозначный вывод о характере модификации структуры клеток и клеточных органелл в листьях растений в результате гибридизации. В связи с этим была проанализирована структура и ультраструктура листовой ткани, клеток и клеточных органелл у родительских линий подсолнечника и гибридов F<sub>1</sub>, полученных на их основе.

Для микроскопического исследования клеток мезофилла листа брали высечки из центральной части второй пары настоящих листьев (2х2 мм). Все этапы подготовки образцов (фиксация в 2,5 %-ном растворе глутарового альдегида, контрастирование, обезвоживание, заключение в полимеризующие смеси типа эпон, получение и окрашивание полутонких срезов для светооптического изучения) проводили с использованием общепринятых методических приемов. Ультратонкие срезы получали на приборе EM UC26 (Leica, FRG) и дополнительно контрастировали солями тяжелых металлов, а их исследование проводили в электронном микроскопе Tescan 12 (Phillips, Holland). Полутонкие срезы толщиной 0,5–1 мкм для светооптического наблюдения дополнительно окрашивали метиленовым синим и исследовали в светооптическом микроскопе Axioskop Zeiss (Германия).

В анализ по скорости прорастания растений до стадии формирования 2-й пары настоящих листьев были отобраны образцы: отцовская линия ВД 541 Rf (6,3 см), две материнские линии ЭД 73 (7,2 см) и ЭД 169 (5,6 см), а также гибриды F<sub>1</sub> – ЭД 73 × ВД 541 Rf (10,0 см) и ЭД 169 × ВД 541 Rf (7,9 см), с эффектом гетерозиса по высоте проростков – ГРС – 48 % и 33 %, соответственно.

Анализ светооптических микрофотографий поперечных срезов листовой ткани всех 5 образцов свидетельствует, что толщина среза листовой пластинки родительских и гибридных форм практически схожа, варьируя от 220 мкм (ВД 541 Rf) до 278 мкм (ЭД 73). Количество клеток в 1 мм<sup>2</sup> губчатой паренхимы листовой ткани у всех форм превышает в различной степени соответствующие показатели столбчатой паренхимы, особенно у отцовской формы ВД 541 Rf (в 3,3 раза). Однако размер клеток демонстрирует обратную зависимость, т.е. у всех образцов клетки

столбчатой паренхимы больше, чем губчатой, примерно в 1,5–2 раза. Интересно отметить, что у гибридов, относительно их родителей количество клеток в столбчатой паренхиме больше, а в губчатой имеет промежуточные значения. Размеры клеток у гибридных и родительских форм в каждом типе паренхимы листа в целом сходны, за исключением гибрида ЭД 169 х ВД 541 Rf, у которого площадь клеток, особенно в столбчатой паренхиме имеет наименьший показатель.

Количество хлоропластов в одной клетке и их размер в столбчатой ткани у всех 5 образцов подсолнечника значительно превышают соответствующие показатели губчатой паренхимы. Однако при сравнении этих показателей у родителей и гибридов для каждого типа паренхим можно видеть отсутствие каких-либо закономерностей. Мы предложили коэффициент, демонстрирующий отношение площади пластид к общей площади клетки, который должен быть более корректным, в определении ее фотосинтетической активности. Для всех образцов данные коэффициенты клеток столбчатой паренхимы превышают в различной степени соответствующие значения клеток губчатой паренхимы, а при сравнении родительских линий и гибридов можно заключить, что они четко коррелируют с высотой проростков, достигая максимальных значений у гибридов.

Таким образом, анализ светооптических микрофотографий клеток листовой ткани родительских линий и гибридов F1, полученных на их основе, свидетельствует, что в соответствии с ростовыми показателями проростков на стадии 2-й пары настоящих листьев, а именно с эффектом гетерозиса по скорости роста, у гибридов количество клеток в столбчатой паренхиме и значения коэффициента, демонстрирующего отношение площади пластид к общей площади клетки, превышают соответствующие значения родительских форм. Такие изменения структуры листовой ткани, могут отражать более высокий уровень метаболических процессов, например фотосинтеза, и, следовательно, высоты проростков.

Известно, что между фотосинтетической активностью хлоропластов и тонкой структурой органелл имеется определенная взаимосвязь. В этом свете особый интерес представляет анализ ультраструктурной организации клеток изучаемых линий и гибридов. Сравнительный анализ электроннограмм показал, что у гибридов энергообразующие органеллы (пластиды и митохондрии) имеют значительно более развитую систему внутренних мембран относительно родительских форм. Также у гибридов, в отличие от родительских линий, в клетках 2-й пары настоящих листьев мы наблюдали многочисленные пероксисомы, в виде триад: пластида – митохондрия – пероксисома.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.*

---

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНОРЕЦЕПТОРНОГО КОМПЛЕКСА КОНЧИКА КЛЮВА УТКИ-КРЯКВЫ (ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ)**

*А.Г. Федоренко<sup>1,2</sup>, Н.В. Лебедева<sup>2</sup>, К.В. Авилова<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

<sup>2</sup>*Институт Аридных Зон ЮНЦ РАН, 344006, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41*

<sup>3</sup>*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, 119234, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12*

*E-mail: afedorenko@mail.ru*

К настоящему времени в литературе описано достаточно большое количество механорецепторов различных представителей животного мира. Морфология и распределение кожных механо-

рецепторов – телец Хербста и Грандри у уток и гусей, находящиеся в клюве и языке, подробно описаны рядом авторов [1–3]. Однако вопрос о структурах, сопровождающих трансформацию механического стимула в нервный импульс и о морфологических особенностях вспомогательного аппарата механорецепторного комплекса, представляется актуальным в понимании проблемы механорецепции и по сей день.

В настоящей работе проведено морфологическое исследование концевой механорецепторного органа и его вспомогательного аппарата клюва кряквы (*Anas platyrhynchos*) на светооптическом и электронномикроскопическом уровнях. Образцы кончика клюва кряквы зафиксированы в глутаральдегиде с последующей дополнительной фиксацией в четырехокиси осмия, обезвожены в спиртах восходящей концентрации, ацетоне и залиты в эпоновые блоки. Блоки резались при помощи ультрамикротоме Leica EN UC6 на полутонкие срезы толщиной 500–700 нм таким образом, чтобы осязательные сосочки располагались вдоль плоскости среза. Срезы окрашивались 1 %-м водным раствором метиленового синего и просматривались в просвечивающий оптический микроскоп. Серию ультратонких срезов контрастировали раствором уранилацетата и цитратом свинца и просматривали в просвечивающий электронный микроскоп Tecnai Spirit G2.

Исследования на светооптическом уровне (рис. а) подтвердили, что осязательный комплекс кончика клюва кряквы состоит из соединительнотканной конической капсулы длиной 900–1000 мкм. Апикальная часть капсулы покрыта кератиновым колпачком, который выдается на 230–250 мкм над поверхностью кожи клюва и диаметром 250–350 мкм в основании и 70–100 мкм в области кератинового колпачка. Капсула содержит от 15 до 30 эллипсовидных механорецепторов двух видов – телец Хербста и Грандри. Они располагаются по всему объему капсулы вокруг центрального пучка миелинизированных нервных волокон. Оба типа телец окружены сложной системой кровеносных сосудов. Эта система имеет несколько артериовенозных соединений на разных уровнях и заканчивается петлей в самой вершине капсулы.

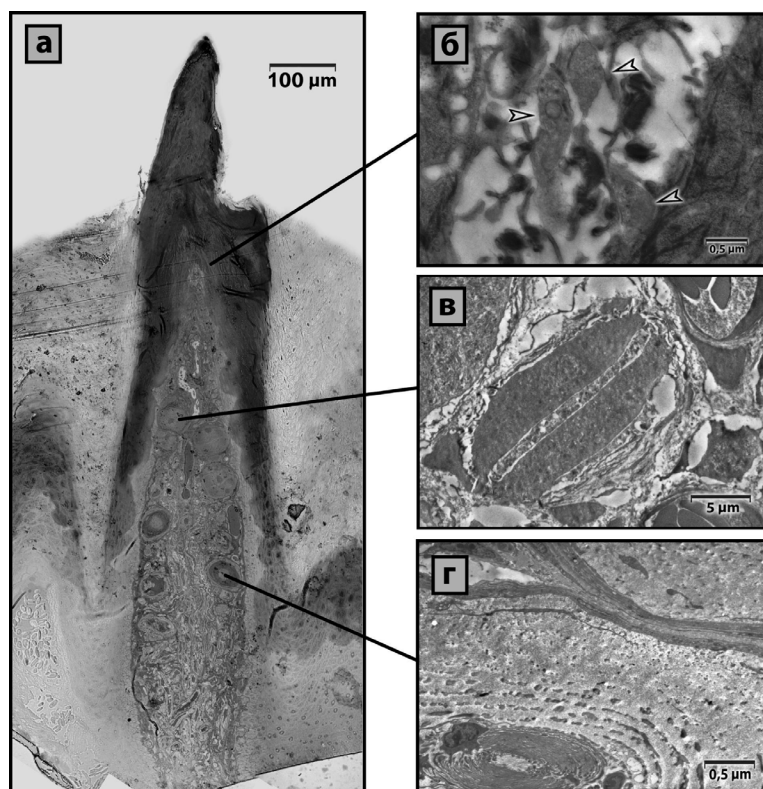


Рис. Механорецепторный комплекс кончика клюва утки-кряквы:  
 а – общий вид осязательного сосочка клюва утки кряквы, окраска метиленовым синим;  
 б – фрагменты нервных окончаний в апикальной части кератиновой капсулы (стрелки);  
 в, г – тельца Грандри и Хербста

На ультраструктурном уровне, помимо структур, подробно описанным ранее (телец Хербста и Грандри – рис. в, г.), основное внимание уделялось изучению свободных нервных окончаний и вспомогательного аппарата. Участки нервных терминалий, расположенных в просветах между кератиноцитами, содержат митохондрии, микротрубочки, пузырьки гладкой эндоплазматической сети и липидные включения (рис. б). В медиальных слоях кератиноцитов были обнаружены клетки, похожие на тактильные эпителиоциты. Они крупнее соседних кератиноцитов, ядро вытянутое, цитоплазма электронносветлая, в ней равномерно распределены редкие митохондрии, лизосомы, мультивезикулярные тельца, вакуоли, микрофиламенты. Эндоплазматическая сеть развита слабо. Встречаются отдельные гранулы гликогена, многочисленные рибосомы образуют скопления. Между органеллами рассеяно большое количество филаментов, образующих компактные пучки в пальцевидных выростах.

В результате проведенного исследования были получены сведения о наличии свободных нервных окончаний в апикальной части осязательного сосочка. Выявлены эпителиальные структуры, отличные от прилежащих кератиноцитов и предположительно относящиеся к элементам вспомогательного аппарата осязательного комплекса.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Avilova K.V.* Some ecological-morphological features of the terminal organ of the bill in four duck species // *Beth. Mosk. УН-ТА.* 1977. № 3. P. 44–49.
2. *Berkhoudt H.* The morphology and distribution of cutaneous mechanoreceptors (Herbst and Grandry corpuscles) in bill and tongue of the mallard (*Anas platyrhynchos L.*) // *Netherlands J. Zoolgy.* 1980. Vol. 30(1). P. 1–34.
3. *Gottschaldt K.M., Fruhstorfer H., Schmidt W., Kraft I.* Thermosensitivity and its possible fine-structural basis in mechanoreceptors in the beak skin of geese // *J. Comp. Neurol.* 1982. Vol. 205. P. 219–245.

---

## УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ АНСАМБЛЕЙ «БЫСТРЫХ» И «МЕДЛЕННЫХ» НЕЙРОНОВ

*Г.М. Федоренко*<sup>1,2</sup>, *А.Г. Федоренко*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Лаборатория молекулярной нейробиологии, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Южный научный центр РАН, Институт аридных зон, 344006, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова 41

E-mail: [gfedorenko@mail.ru](mailto:gfedorenko@mail.ru)

В настоящее время показано наличие определенной корреляции между функцией нейрона и упорядоченной организации его клеточных органелл [1, 2]. Однако для подтверждения этого фундаментального положения необходимы дополнительные экспериментальные данные. В качестве модельного объекта нами был использован абдоминальный мышечный рецепторный орган речного рака (АМР). Известно, что в состав АМР входят два сенсорных нейрона с различными значениями диапазонов функционирования и порогов ответной реакции: тонический – медленно адаптирующийся – МАР и фазический – быстро адаптирующийся – БАР. Целью настоящей работы явилось выявление особенностей ультраструктурной организации сомы этих двух различно функционирующих систем.

Изучена тонкая структура цитоплазматических органелл БАР и МАР в состоянии относительного покоя, т.е. когда рецепторная мышца расслаблена, а спонтанная электрическая активность составляла от 1 до 5 Гц. Анализ электроннограмм, полученных в трансмиссионном микроскопе Tescna Spirit G2, выявил деление сомы чувствительных нейронов на две различные

по электронной плотности зоны: гранулярную и фибриллярную. Темная гранулярная зона содержала основные цитоплазматические органеллы (митохондрии и вещество Ниссля). Более светлая фибриллярная зона состояла из микротрубочек и нейропротофибрилл. В БАР митохондрии образуют крупные агрегаты, состоящие из большого числа единиц и особенно многочисленных в «митохондриальном барьере», разделяющем обширные участки гранулярной и фибриллярных зон. В МАР отмечено выраженное деление гранулярной зоны на отдельные участки разветвленными слоями фибриллярных элементов, пронизывающими всю гранулярную зону (рис 1 а, б).

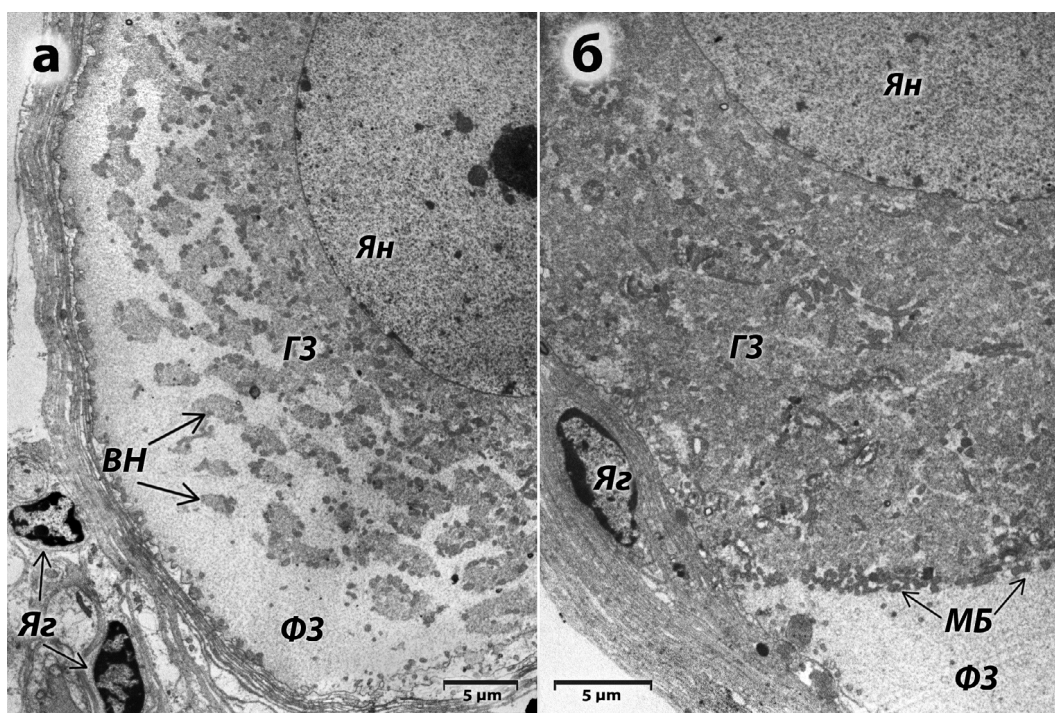


Рис. Общий вид механорецепторного нейрона рака (гранулярная зона):

а – медленный нейрон; б – быстрый нейрон; Ян – ядро нейрона; Яг – ядро глиальной клетки – сателлита; ГЗ – гранулярная зона; ФЗ – фибриллярная зона; ВН – «глыбки» вещества Ниссля; МБ – митохондриальный барьер

Кроме различий в пространственном распределении клеточных органелл в цитоплазме медленный рецептор демонстрирует другую морфологическую особенность, которая не была обнаружена в быстрой системе, а именно большую площадь митохондрий. Количественный анализ показал, что размер митохондриальных профилей на единицу площади в МАР больше на 20 % по сравнению с БАР, а средняя площадь одной митохондрии в МАР почти на 52 % больше, чем в соме БАР. Хотя наличие большого числа митохондрий является весьма характерным для обоих видов рецепторов, относительно высокое скопление их в соме медленной системы, как показано в настоящей работе, может отражать увеличенную потребность в метаболической энергии для рецепторов этого типа. Она вызвана способностью МАР, в отличие от быстрой системы, функционировать в течение длительного времени.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Fedorenko G.M., Gusatinsky V., Kondratieva L., Kaminsky I.I., Korzak V. The isolated Neuron ultrastructure changing during prolonged mediator impact // J. Neuroreport. 1995. Vol. 6. № 17. P. 2325–2332.
2. Косицын Н.С., Федоренко Г.М., Свинов М.М. Пространственная организация внутриклеточных органелл механорецепторных нейронов, как показатель их различного функционального состояния // Доклады РАН. 2002. Т. 385. № 1. С. 123–125.

# РОЛЬ АКСОТОМИИ И ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ $Ca^{2+}$ В СМЕРТИ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РЕЦЕПТОРЕ РАСТЯЖЕНИЯ РАКА

*А. Хайтин, М.В. Рудковский, А.Б. Узденский*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского,  
344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: andrej.wojt@gmail.com*

Аксотомия происходит при нейротравмах и ранениях, в частности, при повреждении периферических нервов. Нарушение кальциевого гомеостаза – один из характерных результатов аксотомии. Изменение концентрации кальция в цитозоле ( $[Ca^{2+}]_i$ ) и органеллах является пусковым элементом сигнальных путей, регулирующих выживание и смерть клеток.  $[Ca^{2+}]_i$  может повышаться за счет притока из наружной среды и внутриклеточных депо –эндоплазматического ретикулума (ЭР) и митохондрий. Излишние ионы  $Ca^{2+}$  выкачиваются через плазматическую мембрану или закачиваются в ЭР кальциевыми АТФазами. Реакция сателлитных глиальных клеток (ГК) на повреждение аксона пока изучена недостаточно. Простой моделью, в которой легко идентифицировать нейроны и окружающие их глиальные клетки, является рецептор растяжения рака (PPP), в котором одиночный сенсорный нейрон окружен глиальной оболочкой. Задачей настоящей работы было изучить влияние аксотомии и ионов кальция на смерть механорецепторных нейронов и ГК.

Методика изоляции интактных PPP (Int), сохраняющих связи с соответствующим ганглием брюшной цепочки, подробно описана в [1]. Они являлись контрольными для аксотомированных препаратов (АТ). Для исследования влияния изменения концентрации ионов  $Ca^{2+}$  на смерть глиальных клеток, окружающих сенсорные нейроны, применялись трехкратные повышение или понижение концентрации  $CaCl_2$  в среде, кальциевый ионофор иономицин (Im) и ингибитор кальциевой АТФазы тапсигаргин (Tg). После аксотомии препараты инкубировались в физиологическом растворе ван Харревельда или в растворах с исследуемыми веществами в течение 8 часов.

В отличие от глии, в самих нейронах PPP некроз и апоптоз нейронов не наблюдались. Как в аксотомированных, так и в интактных препаратах, уровень некроза ГК заметно повышался спустя 15 часов после изоляции, причем в аксотомированных препаратах он был в 2,5 раза выше, чем в интактных. Апоптоз ГК, который оценивался как относительное количество фрагментированных глиальных ядер, появлялся раньше, спустя 4–8 часов после изоляции. Интересно, что в интактных препаратах уровень апоптоза ГК не менялся, начиная с 8 часов инкубации. В то же время, уровень апоптоза ГК в группе АТ препаратов постепенно возрастал в период с 4 до 14 ч после изоляции, и после 12–15 часов изоляции он достоверно превышал таковой в интактной группе. Таким образом, аксотомия усиливает как некроз, так и апоптоз ГК, окружающих аксоны нейронов PPP. Апоптоз и некроз сателлитной глии в аксотомированных препаратах развиваются иначе, чем у интактных. Увеличение концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в среде ( $[Ca^{2+}]_o$ ) достоверно повышало уровень апоптоза ГК, окружающих АТ, но не Int препараты. Понижение  $[Ca^{2+}]_o$  не влияло на апоптоз глии, но повышало некроз глиальных клеток в интактных препаратах, а также некроз ГК вокруг сомы и аксона аксотомированных нейронов. Напротив, повышение  $[Ca^{2+}]_o$  приводило к понижению некроза ГК, окружающих сому и аксон нейрона, как в Int, так и в АТ группах. Аксотомия повышала уровень некроза ГК вокруг сомы и аксона в среде с  $1/3[Ca^{2+}]_o$ , а также вокруг аксона при  $3[Ca^{2+}]_o$ . Некроз ГК вокруг аксона был выше, чем вокруг сомы. Кальциевый ионофор иономицин, способствующий проникновению  $Ca^{2+}$  в цитозоль, повышал апоптоз глии в Int и АТ препаратах. В АТ, но не интактных препаратах иономицин повышал некроз ГК, как вокруг аксона, так и вокруг сомы. Ингибитор  $Ca^{2+}$ -АТФазы тапсигаргин, также повышающий  $[Ca^{2+}]_i$ , способствовал апоптозу глии в АТ препаратах. Он также стимулировал некроз глии в АТ препаратах; в Int некроз достоверно наблюдался только вокруг аксона.



Таким образом, при аксотомии погибают не только нейроны, но и окружающие ГК. Для выяснения вопроса, влияет ли аксотомия на жизнеспособность ГК только локально вокруг аксона, или сигналы, индуцирующие некроз или апоптоз ГК распространяются на всю глиальную оболочку, мы изучали смерть глиии, окружающей как начальную часть аксона, так и тело нейрона. В опытах изменение уровня некроза и апоптоза ГК происходило обычно и вокруг сомы, и вокруг аксона. Возможно, сигнал о повреждении, например, ретроградная кальциевая волна, распространяется по аксону, заходит в сому и индуцирует проапоптотический сигнал, передающийся на сателлитные ГК. Это могут быть те или иные нейротрансмиттеры, NO, Ca<sup>2+</sup> или другие молекулы. С другой стороны, в месте разреза нерва также повреждаются ГК. Ионы Ca<sup>2+</sup> попадают в поврежденные ГК и могут распространяться по глиальному синцитию в виде кальциевой волны. [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>, как известно, стимулирует и некроз, и апоптоз. В АТ препаратах некроз глиии под влиянием иономицина и тапсигаргина, повышающих [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>, был достоверно выше, чем в интактных. Таким образом, связанные с кальцием эффекты аксотомии и других факторов повышения уровня цитозольного кальция, по-видимому, суммируются и повышают вероятность некроза или апоптоза глиии, в то время как эффект изменения внешней концентрации кальция проявляется более сложным образом, что требует дальнейшего изучения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Khaitin A.M., Rudkovskii M.V., Uzdensky A.B.* The method of isolation of the crayfish abdominal stretch receptor maintaining a connection of the sensory neuron to the ventral nerve cord ganglion// *Invertebrate Neuroscience*. 2015. Vol. 15(1). P. 176.

---

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОБСТВЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БЕЛКОВ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

*Р.А. Халилов<sup>1,2</sup>, С.И. Хизриева<sup>1</sup>, В.Р. Абдуллаев<sup>1</sup>, А.М. Джафарова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Дагестанский государственный университет, 367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43а*

<sup>2</sup>*Южный федеральный университет, филиал в г. Махачкале, 367013, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Юсупова, 51*

*E-mail: albina19764@mail.ru*

Гипотермия – состояние гомойотермного организма с пониженной температурой тела. Общую и локальную гипотермию в настоящее время успешно применяют для защиты головного мозга, сердца и ряда других органов от последствий травм, ишемических и реперфузионных повреждений. Известно, что гипотермия сопровождается окислительным стрессом, в развитии которого главная роль принадлежит митохондриям. Образующиеся в результате окислительного стресса свободные радикалы могут вызвать модификацию митохондриальных белков, что может отразиться на интенсивности и спектрах их флуоресценции. В связи с этим нами было предпринято исследование собственной (суммарной и триптофановой) флуоресценции белков митохондрий печени крыс при умеренной (30 °С) и глубокой (20 °С) гипотермии. Опыты проведены на белых лабораторных крысах-самцах линии Вистар. Гипотермию вызывали в камерах из плексигласа, в рубашке которой циркулировала холодная вода. Митохондрии печени выделяли методом дифференциального центрифугирования. Интенсивность флуоресценцию белков при λ<sub>возб</sub>=280 нм (суммарная флуоресценция) и λ<sub>возб</sub>=295 нм (флуоресценция триптофана) исследовали на флуориметре Hitachi F-7000 и выражали в условных единицах. Обработку спектров производят в программе Origin 8.6.

Обнаружено, что интенсивность суммарной и триптофановой флуоресценции митохондриальных белков при гипотермии достоверно снижается (рис. 1, 2). Причем основной вклад в снижении интенсивности флуоресценции вносит умеренная гипотермия. Это указывает на то, что окисление остатков триптофанилов, главным образом, происходит именно при кратковременной (30 °С) гипотермии.

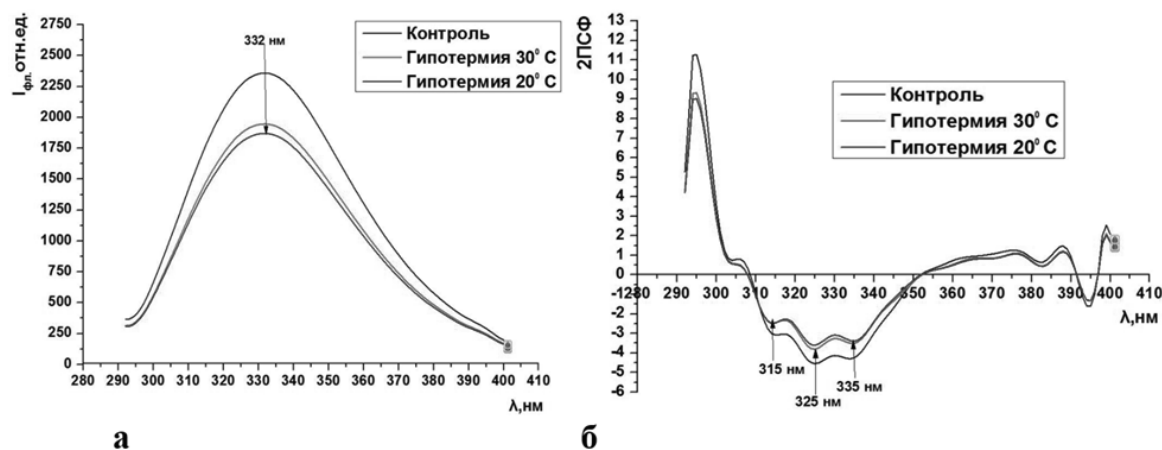


Рис. 1. Спектры суммарной флуоресценции (а) белков митохондрий печени крыс в контроле, гипотермии 30 °С и 20 °С и их вторые производные (б)

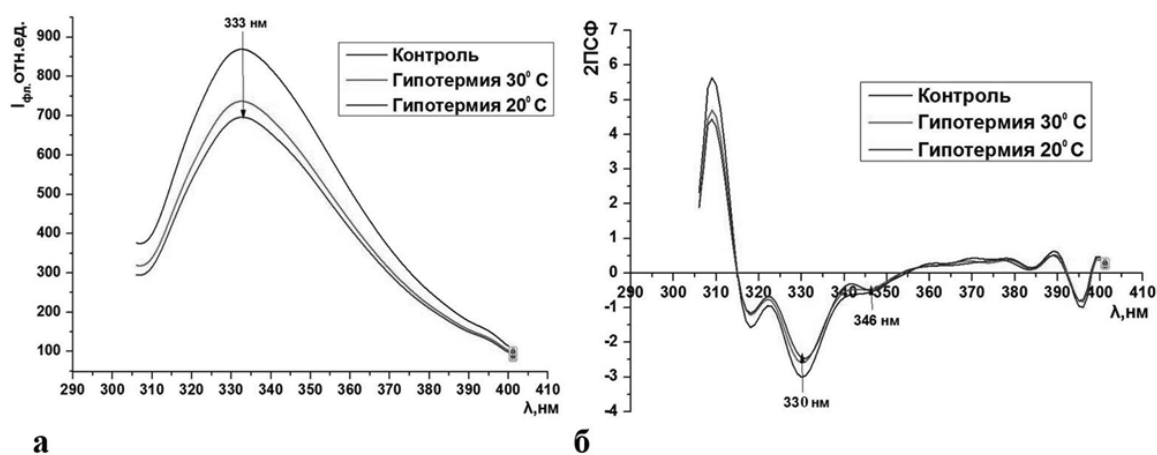


Рис. 2. Спектры триптофановой флуоресценции (а) белков митохондрий печени крыс в контроле и гипотермии 30 °С и 20 °С и их вторые производные (б)

Ни умеренная, ни глубокая гипотермия не меняют основных характеристик спектра флуоресценции митохондриальных белков: все исследуемые образцы имеют аналогичную форму спектра с максимумами при 332, 333 нм соответственно, что характерно для хромофорных аминокислотных остатков белков (в основном триптофана). При этом достоверных изменений во вторых производных спектров суммарной флуоресценции митохондриальных белков не происходит. Вторые производные спектров триптофановой флуоресценции митохондриальных белков содержат один основной отрицательный пик на 330 нм и менее выраженный на 346 нм (см. рис. 2). Интересно то, что отрицательный пик 346 нм становится тем отчетливей, чем длительней гипотермическое состояние и ниже температура тела животного. Таким образом, данные суммарной и триптофановой флуоресценции указывают, что гипотермия сопровождается достоверным падением интенсивности флуоресценции, а также разрыхлением поверхностных гидрофильных

слоев митохондриальных белков без затрагивания ядра глобулы, которое выражается в формирование отчетливого крыла отрицательного пика в длинноволновой области спектра на 346 нм и четкой полосы на 330 нм.

---

## АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ СУСПЕНЗИЙ ГРИБОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В ПРИСУТСТВИИ ВАРФАРИНА И ОРГАНИЧЕСКОГО СЕЛЕНИДА

**О.М. Цивилева<sup>1</sup>, М.С. Малышина<sup>2</sup>, О.А. Цымбал<sup>2</sup>, О.В. Кофтин<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, 410049, Российская Федерация, г. Саратов, пр. Энтузиастов, 13

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 410012, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru; formicarum@mail.ru; olegtsymbal1990@yandex.ru; nerrinart@gmail.com

Быстрое формирование устойчивости патогенных микроорганизмов, в том числе в процессе лечения, диктует необходимость поиска новых антимикробных препаратов [1]. Синтетические селеноорганические соединения [2–4] и биологически активный красный селен являются в этом отношении одними из перспективных объектов исследования. Кумарины и их аналоги проявляют антимикробную активность, в частности, этим давно известны комплексы 3-оксикумаринов с переходными металлами [5]. Продолжается скрининг биопродукторов более активных и менее токсичных субстанций.

Ксилотрофные базидиомицеты – представители рода *Ganoderma* – являются одними из наиболее биотехнологически ценных высших грибов съедобных и/или лекарственных видов, источников антимикробных соединений [6, 7]. Актуальны разработки методологий извлечения и характеристики таких субстанций грибного происхождения.

Нами изучена антибактериальная активность мицелиальных суспензий грибов рода *Ganoderma* в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*. В сравнительных исследованиях использовали культуры 5 видов грибов *Ganoderma* и *Pleurotus* российских и вьетнамских коллекций. Культуры поддерживали на агаризованном пивном сусле (4° по Баллингу) в темноте. Мицелий выращивали глубинным способом на синтетических средах в присутствии варфарина (3-( $\alpha$ -фенил- $\beta$ -ацетил-этил)-4-хромен-2-он) или диацетофенонилселенида (1,5-дифенилселенопентандион-1,5, бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25), и на тех же средах без указанных добавок, в течение 21 сут при 27 °С. Культуральная жидкость и влажный мицелий служили экспериментальными образцами.

Культуры бактерий хранили на скошенном агаре при 4 °С. В опытах использовали суточные культуры. Бактериальную активность определяли общепринятым методом. В агаризованной среде Мюллера-Хоттингера на чашках Петри делали лунки (5 мм) с помощью пробойника, вносили стандартную суспензию бактерий и растирали стерильным стеклянным шпателем по поверхности. В лунки вносили исследуемые суспензии (200 мкл/лунку). Чашки Петри инкубировали в термостате при температуре 37 °С. Через 24 ч определяли зоны ингибирования роста бактерий с помощью линейки.

Выявлен бактерицидный эффект образцов на основе *G. colossus* и *G. applanatum* в отношении *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus* соответственно. Мицелий с элементарным красным селеном, полученным *in vivo* в субмикроструктурированном состоянии путем биологического восстановления из нетоксичной органической формы с помощью метаболитов грибов, проявлял антибактериальную активность против *S. aureus*. Указанная активность в данных эксперимен-

тальных условиях у мицелиальных образцов, выращенных без добавок варфарина и диацетофенонилселенида, как и у самих добавок, отсутствовала.

Грибы рода *Ganoderma* при культивировании с производными кумарина и/или селеноорганическими соединениями – объект дальнейших испытаний в качестве биосистем, обладающих бактерицидным свойством против условно патогенных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus*, а также других бактерий.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Пермякова Н.Ф., Карнаухова М.С., Нечаева О.В., Тихомирова Е.И. Оценка противомикробного действия некоторых новых карбо- и гетероциклических соединений // *Фундаментальные исследования. Медицинские науки*. 2009. № 8. С. 32–34.
2. Chan G., Hardej D., Santoro M., Lau-Cam C., Billack B. Evaluation of the antimicrobial activity of ebselen: role of the yeast plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2007. Vol. 21. № 5. P. 252–264.
3. Pietka-Ottlik M, Wójtowicz-Młochowska H, Kołodziejczyk K, Piasecki E, Młochowski J. New organoselenium compounds active against pathogenic bacteria, fungi and viruses // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 2008. Vol. 56. № 10. P. 1423–1427.
4. Русецкая Н.Ю. Бородулин В.Б. Антибактериальное действие селеноорганического соединения 1,5-ди-(п-фторфенил)-3-селенапентандион-1,5 на клинические штаммы *Pseudomonas aeruginosa* // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2013. № 10. С. 260–262.
5. Рыженко Л.М. Кумарины как лиганды. Синтез и исследование их комплексов с переходными металлами VIII группы. Дис. ... канд. хим. наук: Саратов, 1984. 206 с.
6. Prasad Y., Wesely W.E.G. Antibacterial activity of the bio-multidrug (*Ganoderma lucidum*) on multidrug resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) // *Advanced Biotech.* 2008. Vol. 10. P. 9–16.
7. De S. Pereira-Jr J.A., Rodrigues D.P., Peixoto-Filho R.C., Bastos I.V.G.A., De Oliveira G.G., Araújo J.M., Melo S.J. Contribution to Pharmacognostic and Morphoanatomical Studies, Antibacterial and Cytotoxic Activities of *Ganoderma parvulum* Murrill (Basidiomycota, Polyporales, Ganodermataceae) // *Latin American Journal of Pharmacy*. 2013. Vol. 32. № 7. P. 996–1003.

---

## ОЦЕНКА ПОДВИЖНОСТИ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ ЦЕПЕЙ МОЛЕКУЛ ГЛИКОГЕНА В ГЕПАТОЦИТАХ ЗДОРОВОЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННОЙ ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА

***А.Ю. Честнова, Н.Н. Безбородкина, А.В. Малова, Б.Н. Кудрявцев***

*Институт цитологии Российской Академии наук, 194064, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Тухоревский пр., 4*

*E-mail: chestnova.anna@gmail.com; natalia\_bezborodkina@mail.ru; orixalk@mail.ru; bn\_kudryavtsev@mail.ru*

В клетках паренхимы печени глюкоза запасается в виде молекул гликогена, которые существуют в виде β-частиц и более крупных α-частиц, состоящих из нескольких десятков β-частиц. Цирроз печени приводит к гибели гепатоцитов, что в свою очередь вызывает нарушения в метаболизме гликогена. При этом остается неясным влияют ли эти нарушения на структуру самих молекул гликогена.

В данной работе использовали биопсийный материал печени больных хроническим гепатитом (ХГ) (6 чел.) и циррозом печени (ЦП) (7 чел.). Биопсийный материал без морфологических и клинических признаков поражения печени использовали в качестве контроля (К). Из биопсийного материала печени были приготовлены препараты-мазки изолированных гепатоцитов. Полученные препараты окрашивали на гликоген с помощью флуоресцентного варианта PAS-реакции. Поскольку, согласно современной модели, полностью сформированная молекула гликогена

( $\beta$ -частица) состоит из 12 концентрических ярусов. Четыре внешних яруса или макрогликоген (*МГ*), содержит 94–97 % всех глюкозных остатков, а восемь внутренних, которые формируют так называемый скелет или прогликоген (*ПГ*), содержат 3–6 % глюкозных остатков в молекуле гликогена. Окраска препаратов в течение 40 мин бромистым этидием-SO<sub>2</sub> (EtBr-SO<sub>2</sub>) выявляла *МГ*, а их последующая окраска аурамино-SO<sub>2</sub> (Au-SO<sub>2</sub>) в течение 50 мин – *ПГ*. Для оценки подвижности олигосахаридных цепей в молекулах гликогена в норме и при патологии различной степени тяжести использовали метод FRET. Регистрацию FRET в различных участках гепатоцита производили с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Leica TCSSP5, используя программу FRET AB (Acceptor Photobleaching). Донором (*D*) в данной процедуре служил аурамин, а акцептором (*A*) – бромистый этидий. Изменение расстояния между донором и акцептором в молекуле гликогена оценивали по эффективности FRET (*E*), %.

*E* в гепатоцитах здоровой печени человека в среднем составила 3 %. По мере развития тяжести заболевания печени этот показатель увеличивался при *XГ* в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ), при *ЦП* – в 3 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с *К*. Исследование зависимости *E* от степени заполнения внешних ярусов молекул гликогена в гепатоцитах человека показало, что в *К* и при *XГ* наблюдалась положительная корреляция между этими показателями ( $r = 0,314$ ,  $r = 0,220$  ( $p < 0,001$ )), в то время как в гепатоцитах с *ЦП* она отсутствовала ( $r = 0,064$  ( $p > 0,05$ )). Определение расстояния между *D* и *A* в частицах гликогена позволило установить, что в гепатоцитах здоровой печени человека оно составляет, в среднем,  $6,14 \pm 0,05$  нм, при *XГ* –  $5,69 \pm 0,04$  нм, а при *ЦП* –  $4,88 \pm 0,02$  нм. Исследование распределения клеток по расстоянию между *D* и *A* в популяции гепатоцитов показало, что гетерогенность клеток по этому показателю уменьшается по мере развития тяжести поражения печени. В здоровой печени коэффициент вариации для расстояния между *D* и *A* составил 20,9 %, при *XГ* – 16,4 %, а при *ЦП* – 12,0 %. Также было показано, что по мере заполнения внешних ярусов молекул гликогена глюкозными остатками, расстояние между *D* и *A* в *К* и при *XГ* уменьшается гораздо сильнее, чем при *ЦП*.

Таким образом, можно сделать вывод, что олигосахаридные цепи в молекулах гликогена в *К* и при *XГ* наиболее подвижны, чем при *ЦП*.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-14-32378 мол\_а, 14-04-00730\_а.*

---

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ РОДА *Quercus* L. В ИСКУССТВЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ЮФУ

*В.А. Чохели<sup>2</sup>, Т.В. Вардун<sup>1,2</sup>, Б.Л. Козловский<sup>2</sup>, М.М. Серед<sup>1,2</sup>, О.А. Капралова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

<sup>2</sup>Южный федеральный университет, Ботанический сад Южного федерального университета, Российская Федерация, г.Ростов-на-Дону, пер. Ботанический спуск, 7

E-mail: [vachokheli@sfedu.ru](mailto:vachokheli@sfedu.ru); [varduny@yandex.ru](mailto:varduny@yandex.ru)

Изучение и сохранение всего биологического разнообразия не возможно без современных генетических методов, к которым, например, относится микросателлитный анализ. Кроме обычных объектов изучения, таких как сельскохозяйственные культуры, виды Красной книги РФ, региональных Красных книг, должны стать виды, используемые в основном для лесного хозяйства и зеленого строительства. К таким объектам относится виды рода Дуб (*Quercus* L.).

Из популяции Ботанического сада были отобраны и описаны [1] два образца дуба черешчатого так называемой зимней формы [2], *Q. robur* var. *tardiflora* – первый (№ 1) 1888 года посадки, второй (№ 2) 1975 г. посадки.

Образцы *Q. robur* var. *praecox* были отобраны из трех разных генераций – № 1, № 2 1930 г. посадки взяты из парковых насаждений ботанического сада, № 3 1963 г. посадки – из насаждений коллекции орехоплодных растений, № 4 и № 5 1975 г. посадки – из насаждений дендрария. Кроме того, для анализа была взята пирамидальная форма *Q. robur*, полученная из семян от *Q. robur* 'Fastigiata'.

Также были отобраны два образца *Q. petraea* (Matt.) Liebl. (Россия, республика Адыгея, база практики Белая речка), вида, наиболее филогенетически близкого к *Q. robur*. В качестве филогенетически далеких из коллекции Ботанического сада ЮФУ были отобраны образцы следующих видов *Q. libani* Oliv., *Q. macrocarpa* Michx., *Q. rubra* L.

ДНК выделяли из почек дуба с помощью набора «СОРБ-ГМО-А». При проведении ISSR анализа использовали праймеры: UBC 811, UBC 835, UBC 841, UBC 857, UBC 878, UBC 880 (Lopez-Aljorna, 2007). Амплификацию проводили в термоциклере Bio-rad T100 (рис. 1).

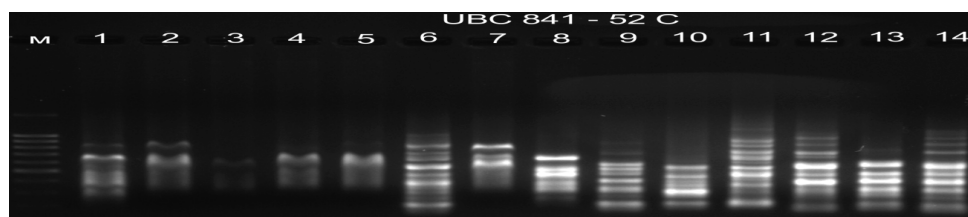


Рис. 1. Результат ПЦР-детекции деревьев рода Дуб с праймером UBC 841:  
 1 – *Q.r. var. praecox*1; 2 – *Q.r. var. praecox*2; 3 – *Q.r. var. praecox*3; 4 – *Q.r. var. praecox*4; 5 – *Q.r. var. praecox*5;  
 6 – *Q.r. var. tardiflora*1; 7 – *Q.r. var. tardiflora*2; 8 – *Q.r. f. Fastigiata*; 9 – *Q. macrocarpa*; 10 – *Q. libani*;  
 11 – *Q. rubra*; 12 – *Q. petraea*1; 13 – *Q. petraea*2; 14 – *Q. petraea*3;  
 M – маркер молекулярного размера

На основе полученных результатов были построены дендрограммы генетического сходства исследуемого материала (рис. 2).

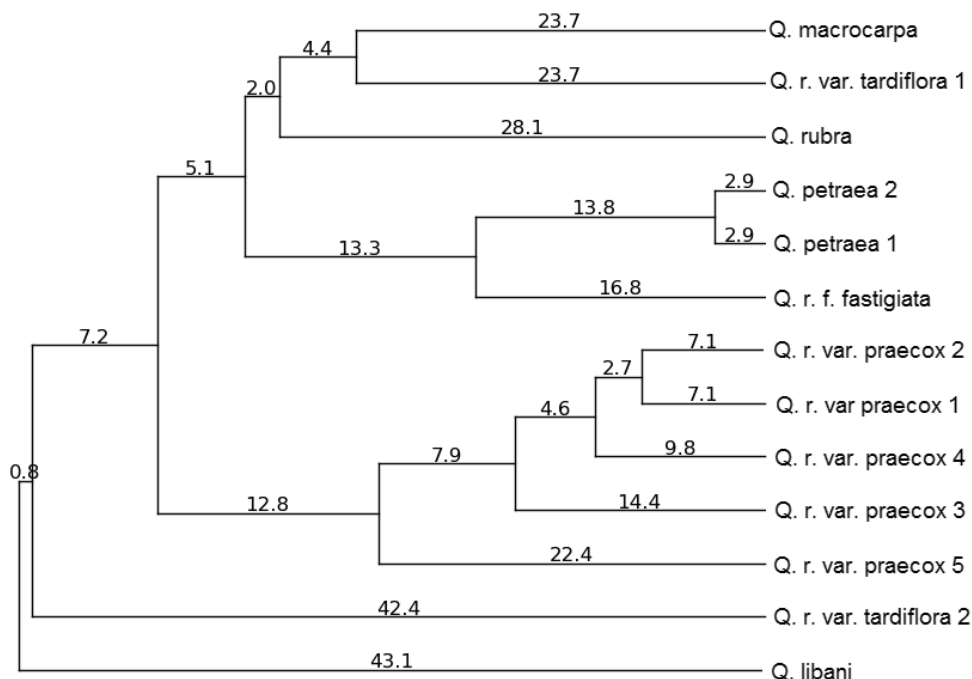


Рис. 2. Дендрограмма построенная методом UPGMA на основе фореграммы 841 праймера

На рисунке 2 можно выделить пять клад:

– клада «*Q. r.var. praecox*», куда входят все образцы этой фенологической формы, а также образец № 2 *Q. r. var. tardiflora*, что естественно, так как этот образец из одной семенной регенерации с *Q. r.var. praecox* № 4 и 5. При этом в пределах клады различия между фенологическими формами существенны;

– клада «*Q. petraea*», куда также входят образцы *Q. robur* 'Fastigiata' и *Q. macrocarpa*, что не противоречит филогенезу рода;

– клада с образцами *Q. Libani* Oliv. и *Q. Rubra* L., видами наиболее в систематическом отношении удаленными от *Q. robur*;

– клада с единственным образцом *Q. r. var. Tardiflora* № 1, который оказался в наименьших родственных связях с остальными образцами *Q. robur* и *Q. petraea*. Показательно, что при построении дендрограммы методом UPGMA этот образец находится в большем родстве с североамериканскими видами *Q. rubra* и *Q. macrocarpa* (в одной кладе), чем с *Q. r.var. praecox*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Козловский Б.Л., Федоринова О.И., Куропятников М.В. Новый перспективный для зеленого строительства и лесоразведения в Ростовской области образец *Quercus robur* L. // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ). 2015. № 2(106). С. 580–591.
2. Черняев В.М. О лесах Украины. М., 1858. 54 с.

---

## ВЛИЯНИЕ ПИНЕАЛОНА НА РЕЗЕРВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОРГАНИЗМА АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС ПРИ ПЛАВАНИИ

*Р.Г. Шейхова<sup>1</sup>, Д.С. Лысенко<sup>2</sup>, В.В. Митусов<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Дагестанский государственный университет, 367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Гаджиева, 43-а

<sup>2</sup>Южный федеральный университет, Академия физической культуры и спорта, 344065, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Днепропетровский, 116

E-mail: dslysenko@sfedu.ru

Известно, что малые дозы алкоголя могут способствовать некоторому увеличению точности движений, повышать порог болевой чувствительности. Именно поэтому алкоголь используется в качестве допинга в некоторых видах спорта, что при систематическом употреблении может повышать риск преждевременного старения и снижать профессиональное долголетие спортсменов. Целью исследования явилось выявление действия пептидного биорегулятора Пинеалон на активность аминотрансфераз и содержание общего белка крови при интенсивных физических нагрузках на фоне хронической алкогольной интоксикации, поскольку имеется большое количество экспериментальных данных о положительных эффектах коротких пептидов при подготовке высококвалифицированных спортсменов.

Все животные (самцы белых крыс) были разделены на 8 групп по следующей схеме: **1-я** – контрольная (интактная); **2-я** – не алкоголизованные с плаванием до утомления; **3-я** – не алкоголизованные, получившие пинеалон; **4-я** – не алкоголизованные, получившие пинеалон до начала плавания; **5-я** – контрольная (алкоголизованные); **6-я** – алкоголизо-

ванные с плаванием до утомления; 7-я – алкоголизованные, получившие пинеалон; 8-я – алкоголизованные получившие пинеалон до начала плавания. Животные получали Пинеалон внутримышечно в дозе 2,5 мкг/кг массы тела в течение 5 дней. Через сутки после последней инъекции крыс принуждали к плаванию до утомления (до отказа) с грузом 8 % от массы тела в воде с температурой 26 °С (такая физическая нагрузка является моделью стрессорного воздействия). Животные алкоголизовались 10 %-нфм этиловым спиртом, в течение 3 месяцев. Через сутки после инъекций и плавания проводилась декапитация. Содержание общего белка в плазме крови и активность аминотрансфераз в сыворотке крови определяли с использованием тест-наборов «Витал». Все эксперименты проведены с соблюдением основных норм биомедицинской этики.

Показано, что относительно 1-й контрольной группы интактных животных активность аминотрансфераз крови достоверно не изменялась ни в условиях вынужденного плавания, ни после введения пинеалона интактным животным и животным, помещенным в условия стрессорной физической нагрузки. При этом предварительное введение пинеалона способствовало достоверному (на 45 – 60 %) удлинению периода вынужденного плавания с отягощением. Следует отметить, что в группах крыс 5–8 с хронической алкогольной интоксикацией (ХАИ) коэффициент Де Ритиса (АСТ/АЛТ) снижается, и ориентировочно во всех группах держится на уровне 0,69. Известно, что в начале развития ХАИ преимущественно отмечается сердечный тип отношения АСТ/АЛТ (больше 1), а в последующем он сменяется его печеночным вариантом (меньше 1). Другими словами, рост соотношения АСТ/АЛТ больше 1–2 свидетельствует о поражении сердца, а падение ниже 1 – о поражении печени. Результаты нашего эксперимента указывают на то, что 3-месячная алкоголизация крыс оказывает токсическое действие на организм. Наши данные согласуются с результатами других авторов, согласно которым в крови алкоголизованных крыс активность АСТ изменяется недостоверно при достоверном росте активности АЛТ.

Нами показано, что во 2-й, 3-й и 4-й группах крыс, не употреблявших 10 %-ный этанол, достоверных изменений в содержании общего белка в крови не выявлено. Возможно, для восполнения энергетического субстрата при данной однократной нагрузке не в достаточной мере использовался процесс глюконеогенеза, который способствовал бы более интенсивному использованию белков и свободных аминокислот. Судя по литературным данным, при алкоголизме выявляются признаки дефицита белка – в биохимических процессах, в морфологических проявлениях и, как следствие этого, – в характерных клинических синдромах. В нашем эксперименте у интактных и подвергнутых стрессорной физической нагрузке алкоголизованных крыс отмечается достоверное снижение уровня белка относительно соответствующих вариантов неалкоголизованных животных, что доказывает угнетающее действие этанола на белковый синтез. Полученные данные отражают развитие белковой дистрофии, которую можно рассматривать как эндогенное белковое голодание. Данные биохимические сдвиги имеют и клиническое проявление: снижение массы тела и, в первую очередь, мышечной массы со снижением мышечной силы и развитием алкогольного миолиза, что и наблюдалось в исследуемых алкоголизованных группах крыс.

Профилактическое применение пинеалона препятствовало неблагоприятным сдвигам уровня общего белка и активности аминотрансфераз в крови алкоголизованных крыс, как в условиях физической нагрузки, так и без нее. Полученные данные могут свидетельствовать в пользу использования пептидных биорегуляторов в условиях интенсивных эмоциональных и физических нагрузок, что особенно перспективно для спортсменов при выборе новых недопинговых стимуляторов работоспособности и профилактики утомления.



# **ИННОВАЦИОННАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ОКСИДА ГРАФЕНА: НОВЫЙ МЕТОД ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ В ДНК**

*А.А. Кузнецов, Н.Р. Максимова, В.С. Каймонов, Г.Н. Александров, С.А. Смагулова*

*Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, 677000, Российская Федерация,  
г. Якутск, ул. Кулаковского, 46*

*E-mail: kuznecov.artem@mail.ru*

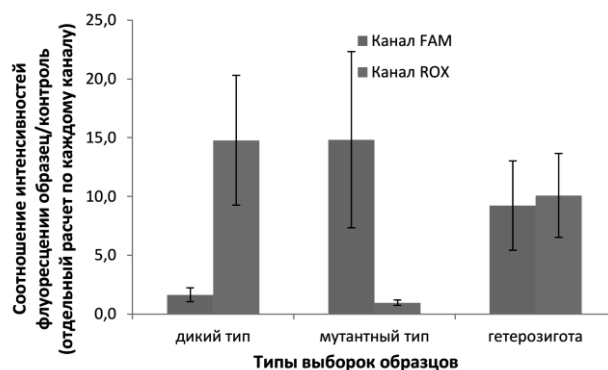
Генотипирование точечных мутаций является важной задачей для современной предиктивной и персонализированной медицины, так как позволяет судить о предрасположенности живого организма к тем или иным заболеваниям, осуществлять правильный подбор лекарств, открывает путь к изучению структуры и функций генома. В настоящее время существует несколько основных и самых распространенных методов для генотипирования точечных мутаций в нативной ДНК: ПЦР-ПДРФ-анализ, флуоресцентные методы детекции (ПЦР в реальном времени, ПЦР с регистрацией сигнала по конечной точке), биочиповые технологии и технологии секвенирования. Однако у всех этих методов существуют определенные недостатки, приводящие к достаточно высокому соотношению цена/качество для процедуры генотипирования. Ввиду этого до сих пор остается актуальным поиск новых, более быстрых, экономичных и эффективных подходов к диагностике точечных мутаций в нативной ДНК.

Недавние исследования ученых по всему миру продемонстрировали потенциал применения производных графена при разработке биосенсорных тест-систем для генотипирования точечных мутаций в ДНК. Опубликовано более 15 подходов, в которых разработаны базовые принципы функционирования флуоресцентных тест-систем на основе оксида графена для генотипирования мутаций.

Оксид графена обладает двумя уникальными свойствами: 1) высокой афинностью к одноцепочечной ДНК, но при этом у него практически отсутствует афинность к двуцепочечной ДНК; 2) способностью тушить флуоресценцию от молекулы находящегося вблизи него флуорофора.

Данные свойства позволяют создавать на его основе флуоресцентные тест-системы для генотипирования точечных мутаций в ДНК, используя оксид графена в виде наноструктурного тушителя флуоресценции, отказавшись от сложных, дорогих и малостабильных молекулярных тушителей, как например, в тест-системах на основе ПЦР в режиме реального времени и ПЦР с регистрацией сигнала по конечной точке – на текущий момент самых распространенных в области рутинной ДНК-диагностики. Благодаря дешевизне, простоте синтеза и устойчивости оксида графена в виде коллоидной суспензии существует возможность разработки на его основе флуоресцентных тест-систем, имеющих себестоимость в разы ниже известных аналогов в этой области.

Нами был разработан новый подход по применению оксида графена для генотипирования точечных мутаций в нативной ДНК с использованием ПЦР и флуоресцентно меченых олигонуклеотидов. На основе данного подхода была успешно разработана первая тест-система, предназначенная для ДНК-диагностики мутации, вызывающей 3М-синдром у якутов. Были проведены оптимизация тест-системы и ее испытания с использованием 48 контрольных образцов ДНК с различными типами носительства мутации, вызывающей 3М-синдром у якутов (по 16 образцов каждого типа, рис.).



*Рис. Результаты испытаний тест-системы на основе оксида графена при диагностике мутации, вызывающей 3М-синдром у якутов. В ходе проведения генотипирования повышенная интенсивность по каналу ROX свидетельствует о наличии аллели дикого типа в образце ДНК, а повышенная интенсивность по каналу FAM – о наличии аллели мутантного типа в образце ДНК*

Разработанная тест-система имеет достаточно высокую достоверность генотипирования мутации, вызывающей 3М-синдром у якутов. Простейшие расчеты показывают, что себестоимость проведения 1 реакции генотипирования с использованием подобной тест-системы получается до 4 раз ниже, чем при использовании простейших отечественных наборов и до 25 раз ниже зарекомендовавших себя импортных наборов типа TaqMan и др.

Разработанный подход позволяет создавать тест-системы для генотипирования практически любых точечных мутаций в ДНК, состоятельность и эффективность нового подхода доказана по результатам разработки тест-системы для генотипирования мутации, вызывающей 3М-синдром у якутов.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы» (уникальный идентификатор проекта: RFMEFI57514X0015).*

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ</b> .....	3
<i>С.Г. Инге-Вечтомов, А.П. Галкин, А.А. Нижников.</i> Прионы и амилоиды: матрицы второго рода .....	3
<i>Arsen Arakelyan, Lilit Nersisyan, Anna Hakobyan.</i> Analysis of mean telomere length using whole-genome sequencing data .....	3
<i>Р.М. Арутюнян, Т.А. Арутюнян, А.Э. Симонян, Г.Г. Оганесян.</i> Изучение мутагенеза методами молекулярной цитогенетики.....	4
<i>М.М. Асланян.</i> Спорные вопросы и дискуссии в генетике .....	5
<i>П.И. Белобров.</i> Принципы биологии клетки <i>ab initio</i> .....	10
<i>Л.Н. Гринкевич.</i> Роль серотонина и нейропептида FMRFамида в формировании эпигенетических механизмов долговременной памяти.....	12
<i>М.М. Есиркепов, Б.Д. Сексенбаев, Б.К. Нурмашев, А.А. Бурабаев.</i> Математическое моделирование в обосновании процесса стимуляции митотического деления при лечении ран аппаратным методом.....	13
<i>С.Ю. Зайцев.</i> Супрамолекулярные биохимические системы как перспективные наноматериалы.....	15
<i>К.А. Лепихов.</i> Редактирование генома: последние достижения и перспективы.....	16
<i>И.П. Савченкова.</i> Новые клеточные системы на основе стволовых клеток для вирусологии.....	16
<i>В.Н. Стегний.</i> Структурно-функциональная дестабилизация генома при инбридинге. Эволюционные аспекты .....	17
<i>В.А. Чистяков, А.Б. Брень, С.А. Емельянцеv.</i> Время митохондриальных лекарств ....	18
<i>Т.П. Шкурат.</i> МикроРНК – роль в адаптации и эволюции .....	20
<b>БИОБЕЗОПАСНОСТЬ</b> .....	21
<i>Т.Н. Ажогина, Л.Н. Илюшкина.</i> Структура микробных сообществ почв городов Ростовской области.....	21
<i>Е.Н. Бакаева, А.В.Бакаев.</i> Экотоксикология и биобезопасность водных экосистем.....	22
<i>М.В. Бузулукская, Л.Н. Илюшкина.</i> Численность санитарно-показательных микроорганизмов в почвах рекреационных зон городов Ростовской области.....	23
<i>Р.Ф. Гарипова.</i> Практические рекомендации по проведению биотестирования при скрининге ксенобиотиков-индукторов эпигенетической изменчивости .....	25
<i>Ю.А. Долгушева.</i> Исследование влияния средовых факторов риска на развитие мозгового инсульта у жителей Ростова-на-Дону .....	26
<i>О.В. Зацепина, Ф.И. Ингель.</i> Влияние физико-химических свойств неконтактно активированных питьевых вод на их генотоксическую активность <i>in vitro</i> .....	27
<i>Т.В. Минникова, П.В. Гобелков, Т.В. Денисова, С.И. Колесников.</i> Фитотоксичность почв района воздействия выбросов Новочеркасской ГРЭС.....	29
<i>Ю.Н. Моргалёв, Т.Г. Моргалёва, И.А.Гостева, С.Ю. Моргалёв.</i> Особенности экологической токсикологии наноматериалов .....	30
<i>А.С. Олькова, М.С. Краснов, В.П. Ямскова, И.А. Ямсков.</i> Исследование мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов (МГТБ) в качестве биопротекторов для гидробионтов (на примере <i>Daphnia magna</i> ).....	32

<b><i>Л.В. Петров, Б.Л. Психа, В.М. Соляников.</i></b> Исследование окисления анилина и гидрохинона, сопряженного с кислотно-каталитическим расходом эпоксида стирола в полярных средах.....	33
<b><i>Н.И. Полякова, Л.А. Пельгунова, А.Н. Пельгунов.</i></b> Радиоэкологические исследования пресноводных водоемов .....	36
<b><i>А.В. Полякова.</i></b> Получение накопительных культур микроорганизмов на 3,4-дихлоранилине .....	37
<b><i>С.Б. Ракитин, Е.Б. Григоркина, Г.В. Оленев.</i></b> Использование молекулярно-генетических маркеров в оценке отдаленных последствий радиационного воздействия.....	38
<b><i>И.С. Сазыкин, М.А. Сазыкина, И.С. Рынза.</i></b> Клинически значимые гены резистентности микроорганизмов в ассоциированных с человеком биоценозах на примере муниципальных сточных вод г. Ростова-на-Дону и техногенно загрязненных почв окрестностей НчГРЭС.....	39
<b><i>М.А. Сазыкина, И.С. Сазыкин, М.И. Хаммами, И.С. Рынза.</i></b> Экотоксикологическая оценка содержания антибиотиков в муниципальных сточных водах .....	41
<b><i>С.Н. Сушкова, Т.М. Минкина, И.Г. Тюрина, Г.К. Васильева, С.С. Манджиева, А.В. Гимп, В.И. Монжоло, А.С. Саламова.</i></b> Исследования содержания бенз(а)пирена в системе почва–растения в условиях модельного эксперимента.....	43
<b><i>Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Лыдина, И.М. Абдурахманов, Ю.С. Карпова.</i></b> Фагоидентификация бактерий, вызывающих порчу продуктов питания....	45
<b><i>А.Б. Хайтович, А.Л. Ситникова.</i></b> Географические информационные системы в эпидемиологии .....	46
<b><i>Е.В. Хархун, А.В. Полякова, В.Г. Хочхарян.</i></b> Определение коэффициента минерализации почвы после применения экспериментального биопрепарата на основе <i>Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens</i> и химического фунгицида.....	47
<b><i>Д.Е. Хмелевцова, И.С. Сазыкин, Е.А. Мирина, Е.Л. Майоров, М.А. Сазыкина.</i></b> Биоразнообразие микроорганизмов-деструкторов пау в почвах и донных отложениях импактной зоны Новочеркасской ГРЭС.....	49
<b>БИОИНФОРМАТИКА .....</b>	<b>51</b>
<b><i>Е.В. Бутенко, Д.Е. Романов, Г.Н. Реброва, З.Г. Попова.</i></b> Изучение локализации сайтов связывания микро-РНК в окрестностях генов супрессоров опухолей .....	51
<b><i>Е.Г. Деревянчук.</i></b> Изучение распределения мотивов зрелой микроРНК вокруг и внутри генов, ассоциированных с развитием атеросклероза.....	52
<b><i>Н.Е. Дунина, К.А. Мороз.</i></b> Влияние факторов внешней среды на решение когнитивных задач.....	52
<b><i>К.С. Караханян, В.П. Омельченко, А.А. Демидова.</i></b> Использование провокационных проб для оптимизации метода кардиоинтервалометрии с помощью новых подходов статистического анализа вариабельности сердечного ритма .....	53
<b><i>Е.А. Кижеватова, В.П. Омельченко.</i></b> Компьютерный анализ электроэнцефалограмм у больных с ишемией головного мозга .....	55
<b><i>И.О. Михальчик, В.П. Омельченко.</i></b> Два типа нелинейной динамики электроэнцефалограмм больных невралгией тройничного нерва .....	56
<b><i>К.А. Мороз, А.И. Новикова, Е.А. Кижеватова.</i></b> Исследование ЭЭГ пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией методом многомерного шкалирования .....	57
<b><i>Н.С. Пономарева, Е.А. Пшеничный, Е.И. Шиманская, А.Е. Панич.</i></b> Локализация микроРНК кластера MIR-17~92 в некодирующей области генов гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси у животных с одноплодной и многоплодной беременностью .....	59

<b>Д.Е. Романов.</b> ALU-элементы как предполагаемый источник сайтов микро-РНК в геноме человека .....	60
<b>Д.С. Рошаль.</b> Нарушение симметрии модели вирусных оболочек приводит к новым решениям проблемы Томсона.....	60
<b>К.В. Шадрин.</b> Математическое моделирование транспорта кислорода через поверхность печени в условиях изолированной перфузии.....	62
<b>Т.П. Шкурат, А.А. Пушкин, М.Ю. Козлова, Е.А. Колина, И.О. Покудина.</b> Биоинформационное исследование миРНК – регуляторов генов-супрессоров опухолей ...	64
<b>Т.П. Шкурат, Е.И. Шиманская, М.Ю. Козлова, Г.Б. Бахтадзе.</b> Биоинформационный анализ распределения миРНК в межгенном пространстве генов оси соматотропина у различных млекопитающих.....	65
<b>ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА .....</b>	<b>66</b>
<b>П.В. Аксенова.</b> <i>Mycoplasma bovis</i> в диких популяциях зубра европейского ( <i>Bison bonasus</i> ).....	66
<b>Н.А. Довженко, И.В. Милаёва, О.А. Воронина, М.С. Царькова, С.Ю. Зайцев.</b> Закономерности изменения тензиометрических параметров молока в зависимости от содержания в нем жира и белка .....	67
<b>Е.Н. Зарудная, С.Ю. Зайцев.</b> Взаимосвязь тензиометрических и биохимических параметров с жирномолочностью коров.....	69
<b>Е.Н. Зарудная, К.С. Прокушина.</b> Содержание диоксинов и диоксиноподобных веществ в тканях и сыворотке крови свиней.....	70
<b>И.В. Колесов, М.А. Елькина.</b> Участки гомологии к эндогенным ретровирусам в геномах овец.....	72
<b>И.В. Лазебная, А.В. Перчун, ОЕ. Лазебный, Г.Е. Сулимова.</b> Внутривидовая изменчивость генов-кандидатов молочной и мясной продуктивности крупного рогатого скота.....	73
<b>Р.С. Ласковец.</b> Влияние пробиотика «Белолин» на микрофлору кишечника собак и его применение для профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта .....	75
<b>П.И. Отрадный, Т.А. Эркенов.</b> Полилокусное генотипирование (геномное сканирование) пород лошадей с использованием оценок полиморфизма фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов (ISSR-PCR маркеры).....	76
<b>Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Лыдина, Е.И. Климушкин, К.В. Белова.</b> Необходимость разработки нового сибирезязвенного бактериофага .....	77
<b>О.С. Фомина, Э.А. Николаева.</b> Внутривидовая дифференциация калмыцкого скота по микроядерному тесту.....	79
<b>ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ .....</b>	<b>81</b>
<b>Г.А. Звягельский, Н.В. Бардуков.</b> Полиморфизм β-лактоглобулина у калмыцкого и голштинизированного черно-пестрого крупного рогатого скота .....	81
<b>Е.К. Бессолицына, Е.О. Смирнова, С.С. Горина, В.С. Ермилова, Я.Ю. Топоркова, Л.Ш. Мухтарова, Ю.В. Гоголев, А.Н. Гречкин.</b> Изменение каталитических свойств цитохромов P450 семейства CYP74 в результате сайт-направленного мутагенеза .....	82
<b>А.С. Богданов, В.В. Стахеев, А.С. Саидов, Ю.М. Ковальская.</b> Оценка филогенетических связей и уровня дифференциации внутривидовых форм малой лесной ( <i>Sylvaemus uralensis</i> ) и желтогорлой ( <i>S. flavicollis</i> ) мышей по трём митохондриальным генам. Неравномерность темпов эволюции генов митохондриальной ДНК в разных филогенетических линиях.....	83

<b>И.Э. Вассерлауф, К.Е. Усов, В.Н. Стегний.</b> Видовая специфичность локализации ДНК из прицентромерного гетерохроматина <i>Drosophila virilis</i> на политенных хромосомах у близкородственных видов группы <i>D. virilis</i> .....	85
<b>Д.И. Водолажский, Е.Ю. Златник, Я.С. Енин, С.С. Кочуев, К.В. Двадненко.</b> Характеристика соматических мутаций в гене <i>BRAF</i> у больных меланомой кожи юга России .....	87
<b>А.А. Ёлов, А.Б. Ильин, М.К. Нурбеков.</b> Генотипические факторы психосоциального здоровья малой группы .....	88
<b>А.Е. Калашников, А.И. Богомолов, И.В. Виноградова, Е.А. Гладырь.</b> Применение метагеномного анализа как методологии создания эффективных диагностикумов РНК-содержащих вирусов .....	90
<b>И.О. Камаев.</b> Генотипирование подвидов непарного шелкопряда ( <i>Lymantria dispar</i> ) на территории России .....	90
<b>Ю.А. Колосов, Н.Ф. Бакоев, М.А. Леонова, Н.В. Широкова, А.Ю. Колосов, С.Ю. Бакоев.</b> Перспективный маркер мясной продуктивности овец .....	91
<b>П.И. Костылев, Е.В. Краснова, А.А. Редькин, А.В. Усатов, М.С. Макаренко, К.В. Азарин, Е.Б. Кудашкина.</b> Влияние генов солеустойчивости на количественные признаки риса в условиях Ростовской области .....	92
<b>Ю.Ю. Кулакова, В.Г. Кулаков.</b> Молекулярно-генетические методы диагностики <i>Cenchrus longispinus</i> (Hack.) Fernald. ....	95
<b>М.А. Леонова, А.В. Усатов, А.В. Радюк, А.Ю. Колосов, Л.В. Гетманцева.</b> Влияние генов лейкемия-ингибирующего фактора (LIF) и эстрогенового рецептора (ESR) на продуктивные качества свиней .....	95
<b>В.А. Мавропуло, Д.В. Муха.</b> Сравнительная характеристика структурно-функциональной организации R2 ретропозонов трех эволюционно удаленных видов тараканов .....	97
<b>М.С. Макаренко, В.А. Хачумов, А.В. Усатов, И.В. Корниенко.</b> Стабильность молекул ДНК при длительном хранении листьев подсолнечника в условиях гербария .....	98
<b>Н.В. Маркин, М.Д. Логачева, Н.С. Колоколова, А.В. Усатов.</b> Локализация индуцированных мутаций в хлоропластном геноме пестролистных линий подсолнечника .....	99
<b>А.С. Мусаева, Г.М. Абылкасымова, М.Д. Тулекей.</b> Полиморфизм гена каппа-казеина у крупного рогатого скота Казахстанской селекции молочного направления .....	100
<b>О.Ю. Наумова, В.В. Одинцова, Д.В. Анциферова, Е.В. Шабалина, Е.Л. Григоренко.</b> Эпигенетические изменения у детей с синдромом дауна по данным исследования полногеномных профилей метилирования ДНК .....	101
<b>И.О. Покудина, М.А. Шкурят, К.А. Коваленко.</b> Роль генов bla <sub>CTX-M</sub> в формировании устойчивости бактерий к бета-лактамам антибиотикам .....	104
<b>А.Е. Святогорова, А.В. Усатов, О.Л. Третьякова, Л.В. Гетманцева.</b> Влияние генетического полиморфизма гена <i>MC4R</i> на откормочные и мясные качества свиней породы дюрок .....	105
<b>К.Е. Усов, И.Э. Вассерлауф, А.А. Коханенко, С.Б. Даулетбаева, В.Н. Стегний.</b> Динамика пространственной организации политенных хромосом при развитии трофоцитов яичников <i>Drosophila yakuba</i> (diptera: drosophilidae) .....	107
<b>Е.М. Чекунова, М.К. Чекунов.</b> Этногенез населения верхнего подвинья. Первые результаты генотипирования коренных жителей и археологических останков .....	108

## КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ..... 110

- Т.В. Авраменко, Г.Н. Вермейчик, Ю.Н. Шкрыль, В.П. Булгаков.** Активация пероксидаз III класса в клеточных культурах растений, трансформированных агробактериальным геном *rolB*..... 110
- Т.В. Ананьина, К.М. Климова.** Миграция полярных и бордюрных клеток в оогенезе *Calliphora erythrocephala* (MG), *Protoformia terranova* (R-D.) и *Sarcophaga sp.* (diptera) 111
- И.В. Видяшева, М.В. Ломова, А.А. Абалымов.** Применение магнитных частиц для создания трехмерных (3D) клеточных конструкций *in vitro* ..... 113
- Э.Б. Всеволодов, И.Ф. Латыпов, А.С. Мусаева.** Фундаментальная проблема управления эмбриональным развитием ..... 113
- А.О. Гранкина, Е.Ю. Кириченко, А.К. Логвинов, М.А. Акименко, С.Ю. Филиппова, А.Ю. Рожков, Г.А. Чурюмова.** Экспрессия нейроглиальных белков в глиомах..... 115
- И.С. Зайцев, Д.О. Соловьева, М.С. Царькова, С.Ю. Зайцев.** Монослой фоточувствительного краун-эфира как основа для хемосенсорного наноматериала на ионы серебра..... 116
- О.А. Землянухина, В.Н. Калаев, В.И. Воронина.** Влияние антибиотиков на получение стерильных культур при микроклональном размножении пяти видов рода *Campanula* ..... 117
- И.Г. Панова, А.С. Татиколов.** Применение цианинового и скварилиевого красителей в качестве зондов для изучения альбуминов позвоночных..... 119
- О.В. Тюмина, С.Е. Волчков, П.А. Овчинников, Т.В. Мельникова, А.И. Горина.** Анализ применения клеточных технологий в Самарской области ..... 119
- Ю.Я. Хрунык, И.В. Вялых, С.В. Беликов, А.В. Корелин.** Культура клеток остеобластов *Rattus norvegicus* как модель для изучения биосовместимости имплантатов на основе титана и его сплавов *in vitro* ..... 120
- Э.З. Эмирбеков, М.З. Пашаева.** Изменение экспрессии РНК белков клеточного цикла у сусликов при гибернации ..... 122

## МЕДИЦИНСКОЕ ПРИБОРОСТРОЕНИЕ..... 124

- К.И. Белоусов, А.С. Букатин, И.А. Денисов, А.А. Евстратов, Е.Н. Есимбекова, И.В. Кухтевич, К.А. Лукьяненко, В.В. Сорокин, А.С. Якимов, П.И. Белобров.** Микрофлюидные технологии создания сторожков и лабочипов для биомедицинских исследований..... 124
- Д.Е. Брагин, Г.Л. Стэттом, Ш. Хагберг, Э.М. Немто.** Применение импульсного электромагнитного поля в лечении нарушений кровообращения головного мозга ..... 125
- И.В. Гавриленкова.** Приборы визуализации медицинских исследований..... 127
- В.В. Горюнова, Т.И. Горюнова.** Практика использования концептуальных спецификаций в медицинском приборостроении..... 128
- А.Е. Пономарев, О.В. Денисов.** Применение материалов с эффектом памяти формы в защитной повязке для крупных суставов ..... 130

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИМЕДИЦИНА..... 132

- Roksana Zakharyan, Sofi Atshemyan, Andranik Chavushyan, Anna Boyajyan.** Genetic variability of immune system, neuroplasticity, and apoptosis in schizophrenia..... 132
- А.А. Александрова, А.В. Долгушина, И.Ю. Щеглова, А.А. Степанова.** Исследование фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин Ростовской области в зависимости от возраста..... 133

<b>И.А. Аллилуев, Л.В. Беляева, Е.М. Вечканов, И.А. Сорокина, И.И. Кузнецов, В.В. Внуков.</b> Особенности развития нитрозильного стресса у крыс при травме в условиях экспериментальной гипергомоцистеинемии .....	134
<b>М.А. Амелина, А.А. Степанова, А.В. Поляков, С.С. Амелина, Р.А. Зинченко.</b> Анализ мутаций в гене ран у больных фенилкетонурией Ростовской области .....	135
<b>А.А. Ананян, Ю. Азаренкова, В. А. Дзрян, А.А. Плотников, Н.П. Милютина, И.В. Кроливец, В.В. Внуков.</b> Система аргиназа–мочевина в патогенезе гонартроза ...	136
<b>С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина.</b> Состояние JAK/STAT сигнального пути в агранулоцитах периферической крови у больных с ишемической болезнью сердца .....	138
<b>С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина.</b> Воздействие радиоизлучения на частоте радиопрозрачности водных сред на активность сигнального пути MAPK/SAPK в агранулоцитах .....	139
<b>С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина.</b> Воздействие радиоизлучения на частоте радиопрозрачности водных сред на реактивность клеток цельной крови и продукцию ими цитокинов .....	140
<b>С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.В. Логаткина.</b> Функциональное состояние клеток цельной крови у пациентов с ИБС .....	141
<b>Е.В. Вербицкий.</b> Активационная природа инсомнических расстройств ночного сна ...	143
<b>И.М. Веницкая.</b> Роль внутриклеточных (атипичных) патогенов в формировании хронического миксоидного ларингита. Пред- и послеоперационное обеспечение хирургии гортани .....	144
<b>В.В. Внуков, Р.В. Сидоров, Н.П. Милютина, Д.Ю. Гвалдин.</b> Роль глутатион-зависимой антиоксидантной системы в крови больных ИБС, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда .....	145
<b>Л.В. Гутникова, Ю.А. Лебедева, И.М. Белоусова.</b> Анализ частоты выявления макропролактинемии у обследуемых с высоким уровнем пролактина .....	146
<b>А.С. Жирник, Е.Ю. Москалева, С.Е. Северин.</b> Изучение противоопухолевой активности никлозамида в отношении клеток линий меланомы и колоректального рака человека .....	148
<b>В.В. Заварзина, А.И. Муравьева, В.Г. Перевозчикова, Ю.П. Семочкина, Л.Б. Горшкова, Г.А. Посыпанова, Е.А. Воронцов, С.Е. Северин.</b> Изучение свойств полимерной формы противоопухолевого препарата этопозид .....	149
<b>Т.М. Заварыкина, М.В. Аткарская, Г.П. Жижина, А.М. Бурдённий, В.И. Логинов.</b> Полиморфные маркеры <i>Arg72Pro</i> и <i>Gln157Lys</i> гена <i>TP53</i> в немелкоклеточном раке легкого .....	150
<b>Д.Д. Каримов, В.В. Эрдман, Т.Р. Насибуллин, О.Е. Мустафина.</b> Изучение ассоциации инсерций и делеций ALU-элементов с долголетием .....	152
<b>В.Д. Ковалева, А.Б. Узденский.</b> Продукция NO и активация NO-синтазы в нейронах и ГЛИЕ при ФДТ .....	153
<b>С.А. Коринфская, Т.А. Мараховская, К.Н. Сараев, Е.В. Машкина.</b> Аллельные варианты гена VEGF и невынашивание беременности .....	154
<b>А.В. Лысенко, А.С. Датченко.</b> Использование коротких пептидов для оптимизации вертикальной устойчивости и быстроты реакции борцов .....	156
<b>О.В. Лянгасова, А.Н. Мальцева, З.Г. Попова, Е.В. Машкина.</b> Спектр мутаций гена <i>MEFV</i> среди жителей Ростовской области .....	157
<b>М.С. Мазанко, Е.В. Празднова, М.Н. Чурилов, В.А. Чистяков.</b> Индукция мутаций у дрожжей под действием диоксида .....	159
<b>М.Г. Маклецова, Г.Т. Рихирева, Т.Н. Федорова, М.Ю. Максимова, М.Ю. Вакуленко.</b> Карнозин предотвращает рост метгемоглобина, вызванный акролеином	



в опытах <i>in vitro</i> на эритроцитах больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения .....	160
<b><i>Н.В. Мармий, Д.С.Есипов, Т.С Невредимова, К.А. Кулигина, Д.С. Налобин, М.Б. Чернышева.</i></b> Использование 8-оксо-2'-дезоксигуанозина как биомакера окислительного стресса при патологии и проверке действия лекарственных препаратов.....	161
<b><i>Е.Г. Мартьянова, Р.Т. Кузнецова, Ю.В. Аксёнова.</i></b> Бордипиррометены как основа материала для определения концентрации кислорода в газовой фазе и диагностики заболеваний органов дыхания.....	162
<b><i>А.В. Миктадова, Е.В. Машкина, М.А. Гельдибаева.</i></b> Ассоциация полиморфизма GLY482SER гена PPARGC1A с нарушением полового созревания подростков.....	164
<b><i>В.И. Минина, М.Л. Баканова, А.В. Рыжкова, Р.А. Титов, Ю.А. Кулемин.</i></b> Полиморфизм генов ферментов эксцизионной репарации ДНК у больных плоскоклеточным раком легких.....	165
<b><i>Е.С. Михайличенко, Л.И. Кардашевская.</i></b> Активность ренин-ангиотензиновой системы в гладкомышечных клетках сосудов у пациентов с артериальной гипертензией и атеросклерозом .....	167
<b><i>М.С. Недосейкина.</i></b> Полиморфизм гена tNFA (-308A/G) и клиническое течение беременности .....	168
<b><i>Л.И. Новикова, В.А. Алешкин, М.М. Зуева, Р.Л. Панурина, А.В. Волков, Н.С. Матвеевская, С.С. Бочкарева, Т.В. Синчугова.</i></b> Изучение фармакокинетики комплексного иммуноглобулинового препарата при назальном введении .....	169
<b><i>Е.П. Омельчук, Е.В. Бутенко, К.А.Коваленко, Е.В. Машкина.</i></b> Экспрессия hSA-MIR-204-5P в эмбриональных и экстраэмбриональных тканях при потере беременности в первом триместре .....	170
<b><i>М.Л. Перепечаева, Н.Г. Колосова, А.Ю. Гришанова.</i></b> Роль генов цитохромов P450 <i>CYP1B1</i> и <i>CYP2J3</i> в развитии сердечно-сосудистой патологии преждевременно стареющих крыс OXYS.....	172
<b><i>О.А. Плотникова, А.Г. Мельников, Г.В. Мельников.</i></b> Люминесцентный анализ воздействия тяжелых металлов на сывороточные альбумины.....	173
<b><i>А.А. Пономарева, Е.С. Морозкин, Е.Ю. Рыкова, И.А. Запорожченко, Т.Э. Скворцова, А.Ю. Добродеев, А.А. Завьялов, С.А. Тузиков, В.В. Власов, Н.В. Чердынцева, П.П. Лактионов.</i></b> Динамические изменения уровня циркулирующих микроРНК в плазме крови больных раком легкого при проведении противоопухолевого лечения.....	175
<b><i>Е.И. Рабинович, С.В. Поволоцкая, О.В. Зубкова, А.П. Капов.</i></b> Распространенность атрофических изменений желудка у лиц, проживающих в зоне влияния ядерно-опасного предприятия на Южном Урале.....	176
<b><i>К.А. Руденко, А.Р. Тугуз, М.М. Нихай, Е.А. Татаркова, Д.В. Муженя.</i></b> Влияние G197/197A SNP гена IL-17A на продукцию медиатора МНК в норме и при бронхиальной астме .....	177
<b><i>А.Б. Сагакянц.</i></b> Характеристики сывороточного альбумина при действии ИФН-А в различных модулирующих условиях инкубации.....	179
<b><i>Е.А. Суярова, Г.Н. Тарасова.</i></b> Анализ новых молекулярных маркеров хронизации гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.....	181
<b><i>Е.А. Татаркова, И.В. Смольков, Д.С. Шумилов, К.А. Руденко, А.Р. Тугуз, Д.В. Муженя, Е.Н. Анохина.</i></b> Полиморфизмы генов ITG и SEL, ассоциированные с сердечно-сосудистыми, онкологическими заболеваниями и бронхиальной астмой у жителей республики Адыгея.....	182

<b><i>С.В. Тимофеева, А.А. Александрова, О.Н. Кузьминова, Т.А. Шерчкова, Л.В. Гутникова.</i></b> Воздействие ультразвукового излучения на семенную жидкость <i>Homo sapiens</i> .....	183
<b><i>Н.А. Ткачев, В.А. Сереженков.</i></b> Динитрозильные комплексы железа как перспективные средства терапии эндометриоза .....	184
<b><i>А.Р. Тугуз, Е.Н. Анохина, И.В. Смольков, Е.А. Татаркова.</i></b> Полиморфизмы генов про- и противовоспалительных цитокинов при злокачественных новообразованиях органов женской репродуктивной системы.....	186
<b><i>К.К. Хачева, В.Б. Соболев, А.А. Никитин, Р.М. Худоерков.</i></b> Определение диагностической значимости иммуногистохимической оценки включений $\alpha$ -синуклеина в биопсийном материале подъязычной слюнной железы пациентов с болезнью Паркинсона.....	187
<b><i>М.А. Шкурат, И.О. Покудина.</i></b> Изучение множественной антибиотикорезистентности у бактерий семейства <i>Enterobacteriaceae</i> .....	189
<b><i>Д.С. Шумилов, И.В. Смольков, Е.А. Татаркова, Т.М. Ашканова, А.Р. Пишдаток, А.Р. Тугуз, К.А. Руденко, Д.В. Муженя.</i></b> Ассоциация полиморфизмов генов селектинов и интегринов с риском развития коронарного и периферического атеросклероза .....	190
<b><i>Н.Г. Яббаров, Е.Д. Никольская, И.Г. Кондрашева, Е.С. Северин.</i></b> Новые подходы в разработке противоопухолевых препаратов направленного действия на основе векторных молекул и полиамидааминовых дендримеров .....	192
<b>НАНОТЕХНОЛОГИИ</b> .....	193
<b><i>Weldegebriel Yohannes, S.V. Belenov, V.E. Guterman, L.M. Skibina, V.A. Volotchaev, N.V. Lyanguzov.</i></b> The effect ethylene glycol on morphology and oxygen reduction reactions on vulcan XC72 carbon supported pt nanomaterials.....	193
<b><i>А.Е. Аринжанов, Е.П. Мирошникова, Ю.В. Килякова, Е.А. Сизова, С.А. Мирошников.</i></b> Изучение действия наночастиц металлов на аквабиоценозы .....	195
<b><i>Т.В. Букреева, И.В. Марченко, М.А. Ванцян.</i></b> Наноструктурированные носители для доставки лекарств в мозг посредством интраназального введения .....	196
<b><i>Е.Ю. Златник, Г.И. Загора, А.В. Бахтин, О.Н. Селютина.</i></b> Иммунотропное действие наночастиц биогенных металлов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> .....	197
<b><i>Ф.И. Ингель.</i></b> Оценка генетической безопасности наноматериалов по расширенному протоколу цитогенетического анализа микроядерного теста с цитохалазином В .....	199
<b><i>А.М. Кацев, С.Л. Сафронюк, Т.В. Крамарь.</i></b> Экоотоксикологическая оценка наноразмерных катализаторов с использованием люминесцентных бактерий, выделенных из Черного и Азовского морей.....	200
<b><i>Т.В. Крамарь, С.Л. Сафронюк, А.М. Кацев.</i></b> Водорастворимые фракции наноразмерных оксидов металлов в проявлении их биотоксических свойств.....	201
<b><i>А.Ф. Кузнецов.</i></b> Детоксикационные свойства модифицированного активного диоксида кремния на организм лабораторных крыс при отравлении сулемой .....	202
<b><i>А.Ф. Кузнецов, С.В. Половцев, А.А. Краснов.</i></b> Влияние микронизированных добавок – сорбентов при введении их в рацион цыплят .....	203
<b><i>А.Ф. Кузнецов, С.В. Половцев, А.А. Краснов.</i></b> Влияние препаратов на основе диоксида кремния на организм лабораторных крыс .....	205
<b><i>Б.В. Набатов, В.Ю. Татарников, М.А. Ракова, И.В. Марченко, М.А. Ванцян, Т.В. Букреева.</i></b> Модификация гематином и фотодитазином микрокапсул на основе наноструктурированных частиц карбоната кальция и полиэлектrolитных слоев ..	207

<i>Е.А. Сизова, Е.В. Шейда.</i> Изменение двигательной активности крыс при введении наночастиц железа .....	208
<i>Е.В. Шейда, Е.А. Русакова, О.Ю. Сипайлова.</i> Влияние электромагнитного излучения на поведение крыс в тесте «открытое поле» при введении наночастиц железа.....	209
<i>Ю.А. Югай, Т.В. Авраменко, Ю.Н. Шкрыль.</i> Антибактериальный эффект наночастиц серебра в культурах клеток растений.....	211
<b>РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА .....</b>	<b>212</b>
<i>М.М. Вакараева, О.В. Нечаева, Е.И. Тихомирова, Беспалова Н.В., Д.А. Заярский.</i> Оценка регенеративной активности препарата на основе полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода.....	212
<i>И.В. Заднипрный, О.С. Третьякова, А.В. Кубышкин, Т.П. Сатаева.</i> Применение концентрата полифенолов винограда «Эноант» в терапии хронического гепатита .....	213
<i>М.С. Краснов, А.И. Шайхалиев, Е.Ю. Рыбакова, В.П. Ямскова, И.А. Ямсков.</i> Влияние биорегулятора, выделенного из сыворотки крови, на регенеративные процессы в костной ткани.....	215
<i>Н.А. Павлов, Е.В. Соловьёва, А.Ю. Федотов, Л.А. Усакин, М.А. Пальцев, В.С. Комлев, А.А. Пантелеев.</i> Композиционные матриксы на основе альгината для тканевой инженерии.....	216
<i>С.Б. Панина, И.В. Кролевец.</i> Полиморфные варианты генов матриксных металлопротеиназ при посттравматическом гонартрозе .....	217
<i>А.В. Печерский, В.И. Печерский, А.Б. Смолянинов, В.Н. Вильянинов, Ш.Ф. Адылов, А.Ю. Шмелёв, О.В. Печерская, В.Ф. Семизлазов.</i> Роль нарушения регенерации в развитии канцерогенеза.....	219
<i>И.А. Пономарева, В.Н. Давиденко.</i> К вопросу о возможностях и механизмах репаративного гистогенеза скелетной мышечной ткани млекопитающих и амфибий.....	220
<i>О.А. Романова, Е.В. Сытина, Т.Х. Тенчурин, Т.Е. Григорьев, Е.В. Соловьёва, С.Г. Рудяк, С.Н. Чвалун, М.А. Пальцев, А.А. Пантелеев.</i> Сравнительная оценка биосовместимости полимерных матриксов, используемых для создания кожных эквивалентов .....	221
<i>Л.А. Усакин, Е.А. Тверье, А.М. Кульчицкая, Ю.А. Сивкова, Е.В. Соловьёва, А.Г. Зарайский, А.А. Пантелеев.</i> Влияние протеин-дисульфидизомеразы <i>AGR2</i> на транскриптом эпидермальных кератиноцитов кожи млекопитающих .....	223
<i>А.И. Шайхалиев, И.В. Вахрушев, М.С. Краснов, К.Н. Ярыгин, В.П. Ямскова, И.А. Ямсков.</i> Влияние биорегулятора, выделенного из сыворотки крови, на пролиферацию мезенхимальных стромальных клеток <i>in vitro</i> .....	223
<i>Е.В. Шинкарук, Е.В. Агбалян.</i> Влияние качества питьевой воды на кариологические показатели клеток буккального эпителия у жителей города Надым Ямало-Ненецкого автономного округа .....	225
<b>СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ .....</b>	<b>227</b>
<i>Е.Д. Баринаова, С.В. Виноградова.</i> Фенотипические изменения гаметофоров мха <i>Physcomitrella patens</i> , вызываемые инокуляцией фитопатогенными бактериями .....	227
<i>Е.Д. Баринаова, С.В. Виноградова, А.Н. Князев, Г.П. Арапиди, И.А. Фесенко, А. Урбан, Р.А. Хазигалеева, А.Л. Шаварда, А.Н. Игнатов.</i> Анализ метаболома <i>Physcomitrella patens</i> при взаимодействии с фитопатогенными бактериями.....	228
<i>В.С. Коханов.</i> О функциональных блоках механизма консолидации памяти .....	228
<i>Г.В. Оленев, Н.М. Салихова, Е.Б. Григоркина, Н.Е. Колчева.</i> Спленомегалия у грызунов – индикатор наличия в популяции повреждающего фактора .....	230

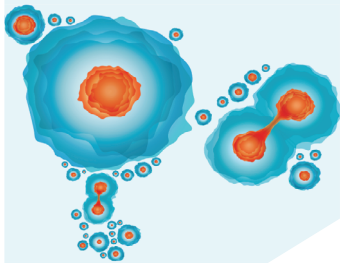
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ ..... 232

- A.A. Nebish, G.S. Santosyan, H.H. Devejian, R.M. Aroutiounian.*** Reproductive characteristics of some armenian apricot cultivars .....232
- К.В. Азарин, М.С. Макаренко, В.А. Хачумов, П.И. Костылев, А.В. Усатов.*** Исследование ДНК-маркеров устойчивости риса к пирикулярриозу .....233
- Е.К. Айдаркин, О.Л. Кундупьян, Ю.Л. Кундупьян, М.Ю. Бибов.*** Влияние выбора когнитивной стратегии на успешность обучения студентов .....234
- А.А. Александрова, Т.А. Шерчкова, К.Г. Савикина, В.Н.Прокофьев, Л.В. Гутникова, С.В. Ломтева.*** Интенсивность хемилюминесценции и уровень тестостерона и эстрадиола в семенной жидкости мужчин с различными типами патоспермии .....236
- М.А.М. Аль-Раби, Н.К. Кличханов.*** Структурно-динамические свойства мембран эритроцитов крыс при умеренной гипотермии разной длительности .....236
- В.Н. Ананьев.*** Сравнительный анализ действия фенилэфрина и клонидина на периферические артерии после 30 дней адаптации к холоду .....238
- А.А. Бурабаев, Б.Д. Сексенбаев, Б.К. Нурмашев, М.М. Есиркепов.*** Молекулярно генетическое изучение роли гена ICE1 у шалфея лекарственного в контроле устойчивости к холоду .....239
- А.О. Бусленко, Н.Ю. Пшеничная, И.С. Алешукина, О.Д. Костенко, С.А. Хуказова, А.В. Алешукина.*** Изменения цитокинового профиля при экспериментальной кишечной инфекции и ее лечении .....241
- В.В. Внуков, Н.П. Милютин, А.А. Ананян, А.О. Даниленко, О.И. Гуценко, А.А. Плотников.*** Регуляция окислительного стресса митохондриально-адресованным антиоксидантом SkQ1 при гипероксии .....242
- Е.В. Воронцова, А.Ю. Гришанова, В.В. Ляхович.*** Экспрессия цитохромов P450 подсемейства 1A в экзосомах, секретлируемых гепатоцитарной клеточной линией .....243
- Л.Н. Гринкевич.*** Роль серотонина и нейропептида FMRF-амида в формировании эпигенетических механизмов долговременной памяти .....244
- Е.А. Губарева, М.А. Майдин, А.В. Панченко, И.А. Виноградова.*** Влияние постоянного освещения на уровень синтеза часовых белков BMAL1 и clock в опухолях кожи у мышей SHR .....246
- С.В. Демьяненко, А.Б. Узденский, А.А. Жукова, А.В. Кубышкин, В.З. Харченко, С.А. Кутя, С.Н. Смирнова, О.И. Лященко.*** Экспрессия сигнальных и нейрональных белков в пенумбре после локального фототромботического инфаркта коры головного мозга крыс .....247
- А.С. Загоскина, Е.Н. Козлов, М.В. Каракозова, Е.У. Мартынова, Д.В. Муха.*** Исследование механизмов транспозиции R2 ретротранспозона рыжего таракана в трансгенных линиях дрозофилы .....249
- М.Д. Зассеева, О.В. Гурова, А.Д. Харазова, А.В. Полевщиков.*** Морфологические свидетельства вовлеченности тимуса в иммунный ответ .....250
- С.Т. Захидов, Н.М. Муджири, И.В. Макарова, Л.Е. Андреева, Т.Л. Маршак.*** Проллиферативные потенции высокодифференцированных функционально зрелых клеток сертоли .....252
- Ж.Г. Исмаилова, М.Д. Астаева.*** Интенсивность перекисного окисления липидов в крови крыс при окклюзии сонных артерий .....253
- Г.В. Карантыш, В.Н. Прокофьев, А.М. Менджерцицкий, М.П. Фоменко.*** Влияние кортексина на свободнорадикальные процессы в крови больных сахарным диабетом (в модели гипербарической оксигенации *in vitro*) .....253

<b>К.А. Коваленко, Д.П. Бурьянова, Т.А. Шерчкова, Е.В. Машикина.</b> Экспрессия генов цитокинов IL6 и IL10 в клетках крови при окислительном стрессе.....	255
<b>А.А. Коханенко, В.Н. Стегний.</b> Взаиморасположение X-хромосомы и хромосомы 4 в пространстве ядер питающих клеток <i>Drosophila simulans</i> в ходе развития.....	256
<b>О.В. Крюкова, А.А. Самойлова.</b> Изменение текучести мембран клеток асцитной карциномы Эрлиха при воздействии электромагнитного излучения СВЧ-диапазона .....	257
<b>З.А. Кудинова.</b> Активность антиоксидантных систем лишайников <i>Cladina stellaris</i> и <i>Cetraria laevigata</i> , произрастающих в зоне влияния Нерюнгринского угольного разреза.....	259
<b>А.И. Кузьменков, Е.В. Гришин, А.А. Василевский.</b> Пептидомный анализ яда паука <i>Lachesana tarabaevi</i> .....	260
<b>О.Е. Лазебный, Е.Г. Белкина, В.Ю. Веденина.</b> Роль различных элементов уходаживания в брачном поведении <i>Drosophila virilis</i> .....	261
<b>А.А. Логвиненко, О.А. Музычук, К. Бауерова, И. Левачева, Т.Н. Федорова.</b> Роль системных воспалительных процессов в развитии окислительных повреждений мозга крыс линии Wistar, влияние нейропротекторов .....	261
<b>И.А. Лугин, К.А. Перцевой, Б.В. Троценко, А.А. Филиппова.</b> Роль соединительной ткани в адаптивной трансформации тканевых регионов простаты крыс при гипокинетическом стрессе .....	263
<b>Г.В. Макарская, С.В. Тарских, О.В. Крюкова.</b> Влияние электромагнитного сверхвысокочастотного излучения на генерацию активных форм кислорода в тканях здоровых животных .....	264
<b>М.В. Назаренко, Н.И. Романенко, А.М. Кацев.</b> Изучение реакций 7-ацилметил-8-бром-3-метилксантинов с электрофильными реагентами.....	265
<b>В.В. Новиков.</b> Влияние комбинированных магнитных полей с очень слабой переменной компонентой на продолжительность метаморфоза у мучного хрущака <i>Tenebrio molitor</i> ...	266
<b>П.М. Нурмагомедова, Д.Н. Джанбулатова, Э.З. Эмирбеков.</b> Автолитическая активность тканей гетеротермного организма в различные сезоны года .....	267
<b>В.Г. Пахомова.</b> Влияние нормобарической и гистотоксической гипоксии <i>in vivo</i> на метаболические параметры печени крысы в условиях искусственного гомеостаза.....	268
<b>В.Г. Пахомова, К.В. Шадрин, А.П. Рупенко, И.И. Моргулис.</b> Влияние гипоксической и гистотоксической гипоксии <i>in vitro</i> на параметры жизнедеятельности печени крысы в условиях управляемой перфузии изолированного органа.....	270
<b>Л.А. Ромодин, Е.Н. Зарудная.</b> Индукция окислительного стресса пероксидом водорода у <i>Brachidanio rerio</i> .....	270
<b>С.Г. Рудяк, М.А. Пальцев, А.А. Пантелеев.</b> Псориазоподобный эффект совместного нанесения ретиноевой кислоты и 2,3,7,8-тетрахлор-дibenзо-п-диоксина на кожу лабораторных мышей .....	272
<b>С.Л. Сафронюк.</b> Оценка биоактивности производных 1,2,4-триазинохиназолоин-2-онов люминесцентными биосенсорами с последующим поиском взаимосвязи «структура-эффект».....	273
<b>Д.Р. Светашева, М.П. Грушко.</b> Кроветворение в мезонефросе, печени и селезенке Жабы обыкновенной ( <i>Bufo viridis</i> Laurenti, 1768) в личиночный период развития.....	274
<b>Ю.С. Сидорова, В.А. Шипелин, В.К. Мазо, А.А. Кочеткова.</b> Верификация медикаментозной модели диабета 2-го типа на крысах линии Вистар .....	276
<b>Е.И. Симонович.</b> Экспериментальное применение биологического активизатора почвенного плодородия в культурах лекарственных растений.....	277
<b>И.П. Сутько, И.В. Зверинский.</b> Влияние кальция фолината на активность монооксигеназной системы печени крыс при экспериментальном внепеченочном холестазае.....	279

<b>А.Г. Сухов.</b> Роль электрических синапсов в развитии мозга .....	280
<b>А.П. Сысоева, О.А. Романова, М.А. Пальцев, А.А. Пантелеев.</b> Регуляторные белки AGR в раннем развитии и функционировании дыхательного эпителия млекопитающих .....	281
<b>Е.П. Теркун, А.А. Кушнерева, М.А. Кожухов.</b> Выживаемость пробиотиков при низких температурах .....	282
<b>А.В. Усатов, Г.М. Федоренко, О.А. Усатова.</b> Ацитологический и ультраструктурный анализ клеток и клеточных органелл родительских линий и гибридов подсолнечника .....	283
<b>А.Г. Федоренко, Н.В. Лебедева, К.В. Авилова.</b> Ультраструктурное исследование механорецепторного комплекса кончика клюва утки-кряквы (предварительные данные) .....	284
<b>Г.М. Федоренко, А.Г. Федоренко.</b> Ультраструктурная организация митохондриальных ансамблей «быстрых» и «медленных» нейронов .....	286
<b>А. Хайтин, М.В. Рудковский, А.Б. Узденский.</b> Роль аксотомии и изменения концентрации Са в смерти глиальных клеток в рецепторе растяжения рака .....	288
<b>Р.А. Халилов, С.И. Хизриева, В.Р. Абдуллаев, А.М. Джафарова.</b> Исследование собственной флуоресценции белков митохондрий печени крыс при гипотермии .....	289
<b>О.М. Цивилева, М.С. Малышина, О.А. Цымбал, О.В. Кофтин.</b> Антибактериальное действие мицелиальных суспензий грибов, выращенных в присутствии варфарина и органического селенида .....	291
<b>А.Ю. Честнова, Н.Н. Безбородкина, А.В. Малова, Б.Н. Кудрявцев.</b> Оценка подвижности олигосахаридных цепей молекул гликогена в гепатоцитах здоровой и патологически измененной печени человека .....	292
<b>В.А. Чохели, Т.В. Вардуни, Б.Л. Козловский, М.М. Середа, О.А. Капралова.</b> Генетический анализ образцов рода <i>Quercus</i> L. в искусственной популяции ботанического сада ЮФУ .....	293
<b>Р.Г. Шейхова, Д.С. Лысенко, В.В. Митусов.</b> Влияние пинеалона на резервные возможности организма алкоголизованных крыс при плавании .....	295
<b>А.А. Кузнецов, Н.Р. Максимова, В.С. Каймонов, Г.Н. Александров, С.А. Смагулова.</b> Инновационная тест-система на основе оксида графена: новый метод генотипирования точечных мутаций в ДНК .....	297

**helicon**



## ПОТОМУ ЧТО КАЖДАЯ КЛЕТКА УНИКАЛЬНА

- › Какие гены и сигнальные пути регулируют эту клетку?
- › Влияет ли эта клетка на другие клетки?
- › Какой фенотип ассоциирован с этим профилем генной экспрессии?
- › Как изменится профиль экспрессии при внесении изменений в микроокружение?
- › Что нужно сделать с клеткой, чтобы повлиять на ее функции?

## ТЕХНОЛОГИИ ИЗУЧЕНИЯ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК

**01**

**Сортер клеток S3e™**  
(Bio-Rad)

**БОГАЩЕНИЕ**



**02**

**Система захвата единичных клеток C1™ Single-Cell Auto Prep**  
(Fluidigm)



- ⊙ ЗАГРУЗКА И ЗАХВАТ
- ⊙ ЛИЗИС
- ⊙ ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ И АМПЛИФИКАЦИЯ

- ⊙ ЗАГРУЗКА И ЗАХВАТ
- ⊙ ВВЕДЕНИЕ ФАКТОРОВ И АГЕНТОВ
- ⊙ ЛИЗИС
- ⊙ ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ И АМПЛИФИКАЦИЯ

**Система манипулирования микроокружением единичной клетки Polaris™**  
(Fluidigm)



**03**

**Полногеномный секвенатор Proton Ion™**  
(Thermo Fisher Scientific)

**СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ**



### ООО «КОМПАНИЯ ХЕЛИКОН»

119991, Москва,  
Ленинские горы  
МГУ им. М.В. Ломоносова,  
д. 1, стр. 40,  
Лабораторный корпус «А»  
Тел. **8 800 770-71-21**  
E-mail: mail@helicon.ru

Представительство в Сибирском регионе:  
630090 г. Новосибирск, ул. Инженерная, д. 28  
Тел. +7 (383) 207-84-85, novosibirsk@helicon.ru

Представительство в Северо-Западном Регионе:  
195267 г. Санкт-Петербург, ул. Ушинского, д. 5,  
корп. 2, лит. А, пом. 1-Н  
Тел. +7 (812) 244-85-52, spb@helicon.ru

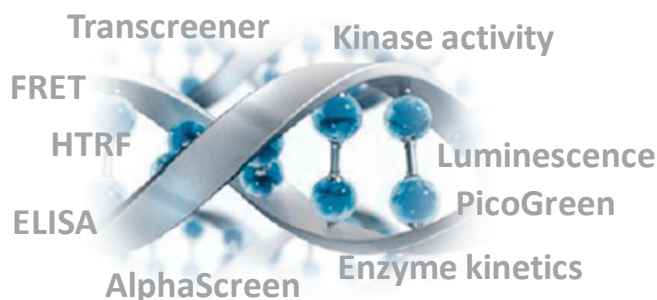
Представительство в Приволжском регионе:  
420107 г. Казань, ул. Университетская, д. 22, оф. 107  
Тел. +7 (843) 202-33-37, volga@helicon.ru

Представительство в Южном регионе:  
344116 г. Ростов-на-Дону,  
ул. 2-ая Володарская, д. 76/23а  
Тел. +7 (863) 294-87-66, rostov@helicon.ru



Получить дополнительную  
информацию можно на сайте

[www.helicon.ru](http://www.helicon.ru)



CLARIOstar

Высокочувствительный многорежимный микропланшетный ридер с уникальными монохроматорами с любой полосой пропускания до 100 нм и сверхбыстрым спектрометром. Возможна установка блока управления составом атмосферы.

PHERAstar FS

Идеальный микропланшетный ридер для высокопроизводительного скрининга. Прибор сочетает высокую чувствительность с самым коротким временем считывания!

Серия Omega

Многорежимные высокочувствительные ридеры отличаются высокой производительностью и гибкостью. Серия построена на единой платформе, что позволяет конфигурировать прибор под задачи пользователя.

NEPHELOstar

Прибор обнаруживает нерастворимые частицы в жидких образцах, измеряя рассеяние света. Применяется для измерения мутности, растворимости лекарств, кинетики взаимодействия белков и микробного роста.

SPECTROstar

Микропланшетные спектрофотометры BMG LABTECH регистрируют спектры поглощения (ABS) используя сверхбыстрый спектрометр. Спектр в диапазоне от 220 до 1000 нм в одной лунке за менее чем 1 секунду.

Компания BMG LABTECH предлагает широкий модельный ряд многорежимных микропланшетных ридеров и принадлежностей для проведения исследований в области биохимии, биомедицины, фармацевтики, для контроля качества и высокопроизводительного скрининга. Техническое совершенство и высокая надежность отличает все приборы BMG.

ООО «НКЦ «ЛАБТЕСТ» является официальным дилером BMG LABTECH, Германия  
Наш адрес: Москва, Б.Тишинский пер. 38







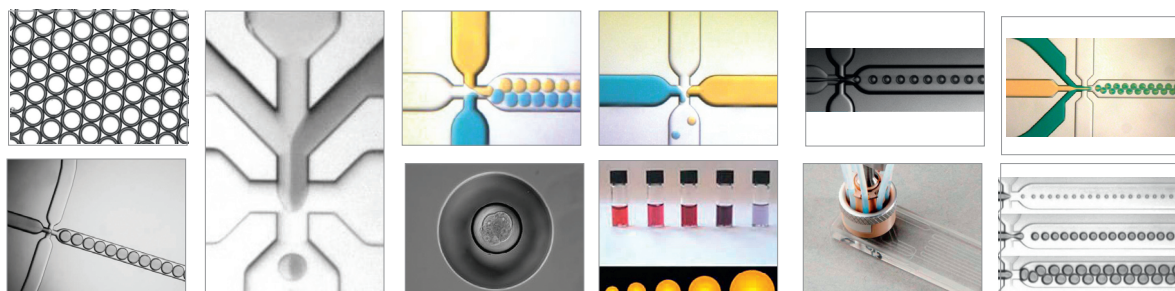
# Микрофлюидика Dolomite



Микрофлюидика **Dolomite** позволяет работать с очень малыми количествами жидкостей, газов, частицами, каплями, клетками животного, растительного и бактериального происхождения с возможностью наблюдать, управлять и контролировать процессы. Это дает возможность проводить «традиционные» исследования в миниатюрном формате, а также проводить исследования, которые ранее были невозможны.

## Особенности и возможности микрофлюидики **Dolomite**

- работа с микро- и нанобъемами (диаметр канала **от 10 нм**);
- высокая воспроизводимость: точность дозирования – порядка пиколитра;
- точный контроль параметров процесса: температуры, скорости потоков, давления, смешивания;
- большая библиотека «стандартных» чипов;
- чипы произвольной конфигурации и геометрии: многослойные и составные чипы с разными свойствами поверхности каналов, интеграция на одном чипе различных стадий процессов для ускорения и автоматизации методик исследований;
- интеграция с приборами, детекторами, системами пробоподготовки и сенсорами (хроматографами, масс-спектрометрами, лазерами, спектрофотометрами, микроскопами и т.д.).



## Биология, диагностика и медицина

- кристаллизация белков (для рентгеноструктурного анализа);
- качественный и количественный анализ фрагментов НК на чипе капиллярного электрофореза;
- чипы для секвенирования НК;
- цифровая капельная ПЦР для количественной ПЦР-диагностики с высокой точностью;
- анализы крови (биохимические, ИФА, на глюкозу и т.д.);
- изоляция ДНК из цельной крови;
- наблюдение за иммобилизованными эмбрионами и клетками.

**Москва** ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ [sales@dia-m.ru](mailto:sales@dia-m.ru) ■ [www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

**Новосибирск**  
пр. Акад.  
Лаврентьева, 6/1  
тел./факс:  
(383) 328-0048  
[nsk@dia-m.ru](mailto:nsk@dia-m.ru)

**Казань**  
ул. Парижской  
Коммуны, д. 6  
тел./факс:  
(843) 210-2080  
[kazan@dia-m.ru](mailto:kazan@dia-m.ru)

**Санкт-Петербург**  
ул. Профессора  
Попова, 23  
тел./факс:  
(812) 372-6040  
[spb@dia-m.ru](mailto:spb@dia-m.ru)

**Ростов-на-Дону**  
пер. Семашко, 114  
тел./факс:  
(863) 250-0006  
[rnd@dia-m.ru](mailto:rnd@dia-m.ru)

**Пермь**  
Представитель  
в УФО  
тел./факс:  
(342) 202-2239  
[perm@dia-m.ru](mailto:perm@dia-m.ru)

**Воронеж**  
тел./факс:  
(473) 232-4412  
[voronezh@dia-m.ru](mailto:voronezh@dia-m.ru)

Для заметок

Для заметок

*Научное издание*

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ,  
НАНОТЕХНОЛОГИЙ И МЕДИЦИНЫ:**

*VI Международная научно-практическая конференция,  
г. Ростов-на-Дону, 1–3 октября 2015 г.*

Компьютерная верстка *К.И. Ильченко*  
Редактор *Ю.А. Пехтерева*

Подписано в печать 22.09.2015. Формат 60x84 1/8.  
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура Times.  
Усл. печ. л. 39. Уч.-изд. л. 39,5. Тираж 100 экз. Заказ 4711.

Издательство Южного федерального университета.  
Отпечатано в отделе полиграфической, корпоративной и сувенирной продукции  
Издательско-полиграфического комплекса КИБИ МЕДИА ЦЕНТРА ЮФУ  
344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 200/1.  
Тел. (863) 247-80-51.