

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
Национальный исследовательский Томский государственный университет
Томский государственный архитектурно-строительный университет
Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Сборник научных трудов
XIII Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

Том 4. Биомедицина

РОССИЯ, ТОМСК, 26 – 29 апреля 2016 г.

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

XIII International Conference of students, graduate students
and young scientists

Volume 4. Biomedicine

RUSSIA, TOMSK, April 26 – 29, 2016



Конференция проведена при финансовой поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 16-32-10075.

Издательство Томский политехнический университет

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
Национальный исследовательский Томский государственный университет
Томский государственный архитектурно-строительный университет
Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Сборник научных трудов
XIII Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

Том 4. Биомедицина

РОССИЯ, ТОМСК, 26 – 29 апреля 2016 г.

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

XIII International Conference of students, graduate students
and young scientists

Volume 4. Biomedicine

RUSSIA, TOMSK, April 26 – 29, 2016

Томск 2016

ПРОГРАММА ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ

Химический факультет и Институт дистанционного образования Томского государственного университета приглашает дипломированных специалистов пройти программу повышения квалификации

«МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ МАТЕРИАЛОВ БИМЕДИЦИНСКОГО И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ»

Направление 04.03.01 Химия

Модульная структура обучения:

Модуль 1: Биология и биомедицина

Модуль 2: Химия и химические технологии

Модуль 3: Наноматериалы и нанотехнологии

Профессиональные компетенции, формируемые в результате обучения:

- формирование представлений о современных подходах в области синтеза материалов биомедицинского и функционального назначения с заданными свойствами;
- формирование представлений о новых методологических подходах в использовании различного оборудования для изучения физиологии человека и материалов биологического и биомедицинского назначений.
- формирование представлений о принципиальных основах, практических возможностях и ограничениях современных методов исследования материалов биомедицинского и функционального назначения;
- ознакомление с аппаратурным оснащением и условиями проведения современного эксперимента, процессами интерпретации и оценивания экспериментальных данных, в том числе публикуемых в научной литературе;
- формирование прогностического понимания фундаментальных проблем и практических методов их решения в области современного материаловедения с учетом новых представлений о способах создания и организации функциональных систем;
- получение теоретических знаний в области исследования структуры, состава и физико-химических свойств функциональных материалов.

Обучение в рамках образовательной программы реализуют ученые с высокой научной квалификацией из ведущих научных организаций РФ. Практическая часть курса проводится с использованием современного аналитического и исследовательского оборудования Лаборатории каталитических исследований и Лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины ТГУ, Научно-образовательного центра «Наноматериалы и нанотехнологии» ТПУ.

КОНТАКТЫ

Руководитель программы: Слизов Юрий Геннадьевич, к.х.н., доцент, декан химического факультета ТГУ, dekanat@chem.tsu.ru.

Координатор программы: Зыкова Анна Петровна, к.ф.-м.н., ассистент ТПУ, zykovaap@mail.ru.

АДРЕС

г. Томск, ул. А. Иванова, 49, корпус № 6, Химический факультет ТГУ

УДК 50(063)
ББК 20л0
П27

П27 Перспективы развития фундаментальных наук [Электронный ресурс]: сборник трудов XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Россия, Томск, 26–29 апреля 2016 г. / под ред. И.А. Курзиной, Г.А. Вороновой. – Томск: Изд-во – Национальный Исследовательский Томский политехнический университет, 2016. – Режим доступа: http://science-persp.tpu.ru/Arch/Proceedings_2016_vol_4.pdf – 155 с.

ISBN 978-5-4387-0655-7
ISBN 978-5-4387-0651-9

Сборник содержит труды участников XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук». Включает доклады студентов, аспирантов и молодых ученых, представленные на секции «Биомедицина». Сборник представляет интерес для студентов, аспирантов, молодых ученых и преподавателей.

УДК 50(063)
ББК 20л0

Редакционная коллегия

И.А. Курзина, доктор физико-математических наук, доцент;
Г.А. Воронова, кандидат химических наук, доцент;
С.А. Поробова

ISBN 978-5-4387-0655-7
ISBN 978-5-4387-0651-9

© ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский
Томский политехнический университет», 2016
© Томский политехнический университет,
электронный текст, 2016

СЕКЦИЯ БИОМЕДИЦИНА

- физиология
- патология
- цитология
- медицинская генетика
- микробиология и вирусология
- лекарственные средства (фармакология, технология лекарств, фармацевтическая химия, фармакогнозия и др.)
- современные биотехнологии
- биохимия и медицинская химия
- системная биология, биоинформатика, молекулярная и клеточная медицина
- системы диагностики и визуализации в медицине

ОГЛАВЛЕНИЕ

СЕКЦИЯ «БИОМЕДИЦИНА»

| | |
|---|----|
| ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ И РЕПОРАЦИЯ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК ФИОРОБЛАСТАХ ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНОЙ МЕЗОДЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА А.В. Агаб, С.А. Васильев | 9 |
| ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АССИМЕТРИИ И ПРОСТРАНСТВЕННОГО ВОСПРИЯТИЯ У ДЕТЕЙ С ОРГАНИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ Р.М. Акбиров, Е.А. Катерисова | 12 |
| БРАСЛЕТ-МАНИТОР АРИТМИИ А.А. Бояхчан, К.В. Оверчук, А.А. Уваров | 15 |
| СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УЗНАВАНИЯ AP-САЙТОВ ДНК AP-ЭНДОНУКЛИАЗОЙ ZARE ИЗ DANIO RERIO К.А. Вабищевич | 18 |
| СОВРЕМЕННЫЕ ТЕПЛОВИЗИОННЫЕ МЕТОДЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ, ДИАГНОСТИКИ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОМЕДИЦИНЕ Б.Г. Вайнер | 21 |
| ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СТРЕССА НА БЕЛКОВЫЙ ОБМЕН У КРЫС К.М. Власова | 24 |
| ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ВРОЖДЕННЫМ ПСЕВДОАРТРОЗОМ ГОЛЕНИ Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, С.Н. Лунева | 27 |
| ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДИСПЕРГИРОВАННОЙ СУСПЕНЗИИ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ, НЕСТЕРОИДНЫХ ФИТОЭСТРОГЕННОВ И ДРУГИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В MEDICAGO SATIVA L., ИНТРОДУЦИРУЕМОЙ В УСЛОВИЯХ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ Е.Б. Дайбова, О.Н. Змеева, Н.Э. Коломиец, А.В. Кравец | 30 |
| ВЫЯВЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРНЫХ SNPs, СВЯЗАННЫХ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫХ РАКОМ А.О. Дегтярева, А.В. Голованова | 33 |
| ИЗУЧЕНИЕ БИОПЛЕНОК И ПОЛИ-3-ГИДРОКСОБУТИРАТА У БАКТЕРИЙ AZOSPIRILLUM BRASILENSE МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИИ Ю.А. Дятлова, А.В. Тугарова, А.А. Камнев | 36 |
| ВЫЯВЛЕНИЕ КОМЕТИЛИРОВАННЫХ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ А.А. Зарубин, А.В. Марков | 39 |
| ИНТЕГРАТИВНАЯ И ЭПИСОМАЛЬНАЯ ФОРМЫ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА 16 ГЕНОТИПА В ИЗМЕНЕННОМ ЦЕРВИКАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ М.К. Ибрагимова | 42 |
| АВТОМАТИЧЕСКОЕ ИЗМЕРЕНИЕ ТОЛЩИНЫ ВОРОТНИКОВОГО ПРОСТРАНСТВА ПЛОДА ПО СНИМКАМ УЗИ Н.В. Калашникова, В.А. Конов, А.Ю. Блинов | 45 |
| ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА КАРДИОМИОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, АССОЦИИРОВАННОЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА А.Ф. Канев | 48 |
| ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОРДЮРНЫХ И ПОЛЯРНЫХ КЛЕТОК В ЯИЧНИКАХ CALLIPHORA ERYTHROSCERHALA MG. (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) К.М. Климова, Т.В. Ананьина | 51 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИКОЗИДОВ И ФЕНОЛГЛИКОЗИДОВ А.М. Кондранова | 54 |

| | |
|---|-----|
| DEVELOPMENT OF THE PORTABLE REFLECTANCE PULSE OXIMETER A.A. Kurin | 57 |
| РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ I Т.А. Кургина, Р.О. Анарбаев, О.И. Лаврик | 60 |
| ПРИМЕНЕНИЕ НАНОСЕКУНДНОГО ЭЛЕКТРОННОГО ПУЧКА ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ СТОЧНЫХ ВОД А.А. Курилова | 63 |
| ИЗУЧЕНИЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СЕЛЕНИТ-ИОНОВ БАКТЕРИЯМИ РОДА AZOSPIRILLUM П.В. Мамченкова, А.А. Камнев, А.В. Тугарова | 66 |
| СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАННОГО СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ПРИ РАЗНЫХ СРОКАХ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОПЛАНТА Н.К. Маркова | 69 |
| ДЕГРАДАЦИЯ ИСКУССТВЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ В КОЖЕ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В КОСМЕТОЛОГИИ Г.А. Мартынов, И.Г. Беялова, А.С. Кульков | 72 |
| СПЕЦИФИКА ОБЩЕТЕХНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВЫСОКОГОРНЫХ ТОРФОВ АЛТАЙСКОЙ ГОРНОЙ ОБЛАСТИ С.О. Миронова | 75 |
| DETECTION OF GENETICALLY MODIFIED SOYBEAN IN SOME PROCESSED FOOD PRODUCTS IN RUSSIA D.S. Nsengiyumva | 78 |
| PRODUCTION OF CAROTENIODES BY UTILISING BREWERY LIQUID WASTE (RESTING YEASTS) D. Nsengumemyi, S.A. Shatunova, Yu.Yu. Morzherin | 81 |
| PREPARATION OF NOVEL DERIVATIVES OF PECTINIC ACID FOR MICROENCAPSULATION S. Ntakirutimana, D.A. Tolstykh, K.V. Kozhikhova | 84 |
| РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН ГИДРОХЛОРИДА О.С. Очиров, С.А. Стельман | 87 |
| ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕАКЦИИ ШТАУДИНГЕРА А.С. Павлова, Б.П. Челобанов, Д.А. Стеценко | 90 |
| АНТИБИОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БАКТЕРИИ PSEUDOMONAS AERUGINOSA Е.С. Пальчевская, Т.А. Петрова | 93 |
| ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ИНФИЛЬТРАТА РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИ-ОБОСОБЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ОПУХАЛЕВЫХ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Д.Н. Паутова, Л.А. Таширева, М.В. Завьялова | 96 |
| INVESTIGATIONS ON THE VITAMIN E CAUSED RADIATION PROTECTION OF HEALTHY CELLS Betina Rajaziti, Katrin Borrman, Burkhard Greve, Uwe Haverkamp | 99 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ОКТАЭДРИЧЕСКИХ КЛАСТЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ РЕНИЯ С РАЗЛИЧНЫМ СОСТАВОМ КЛАСТЕРНОГО ЯДРА Н.Т. Позмогова, А.А. Красильникова, А.О. Соловьева, М.А. Шестопалова | 102 |
| АНАЛИЗ АБЕРРАНТНО-МЕТИЛИРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В СУСТАВЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ДНК КРОВИ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО А.А. Пономарева, А.А. Бондарь, А.Ю. Добродеев | 105 |
| MICROBIOLOGICAL PRODUCTION OF S-EQUOL S.M. Razavizadeh, Yu.Yu.Morzherin | 108 |

| | |
|--|-----|
| СИНТЕТИЧЕСКИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ МАТРИКСЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ПАРАЦЕТОМОЛА А.А. Ракина, Я.С. Бабинская | 111 |
| ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ATM, NBS1, XRCC2, XRCC3 У ЖИТЕЛЕЙ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО А.В. Рыжкова, Р.А. Титова, О.А. Соболева | 114 |
| ПОЛНОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ПОВЕДЕНЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИМИ ДЕПРЕССИВНОЕ СОСТОЯНИЕ А.А. Садчиков, А.А. Студеникина, А.А. Полякова | 117 |
| ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА В УСЛОВИЯХ СВЕРХНОРМАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ РАДОНА О.А. Соболева, А.В. Рыжкова | 120 |
| К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА МИКРООРГАНИЗМЫ Д.И. Сумина | 123 |
| COLORIMETRIC SENSORS FOR HEPARIN DETECTION BY TOLUIDINE BLUE AND MALACHITE GREEN DYES E.V. Sukhoroslova, O. Yu. Zyuikova, M.S. Polonskiy | 126 |
| ВОЗМОЖНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ О-ФТОРБЕНЗОЛА (ГАЛОНАЛА) МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРМЕТРИИ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ Б.С. Темиргали, О.Л. Мезенцева | 129 |
| ЭКСТРАКТ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (SORBUS AUCUPARIA L.) В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ А.В. Ульрих | 132 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕРИЛИЗАЦИИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АТМОСФЕРНОЙ ПЛАЗМОЙ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН ИЗ ПЭЭТФ Е.О. Филиппова, Н.С. Каланда, А.Н. Алейник | 135 |
| REGULARITIES OF BIOMEDICAL TI-NB ALLOYS, PREPARED BY ELECTRON ARC MELTING AND SELECTIVE LASER MELTING M.A. Khimich, I.A. Glukhov, E.A. Parilov | 138 |
| КРАТКИЙ АНАЛИЗ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПИОЦИАНИНА К.А. Худеева, Е.К. Прохорев | 141 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ABC-ТРАНСПОТЕРОВ В ОПУХОЛИ ЛЕГКОГО ПРИ ПРОВЕДЕНИИ НЕОДЪЮВАНТНОЙ ХИМИТЕРАПИИ М.М. Цыганов, И.В. Дерюшева, Е.О. Родионов | 144 |
| ВЛИЯНИЕ ГЛУТАТИОНИЛИРОВАНИЯ И КАРБОНИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Р.И. Чильчигашев, Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая | 147 |
| ВЛИЯНИЕ ПРОШЛОГО ОПЫТА НА НЕЙРОГЕНЕЗ У МЫШИ В.В. Широкова, М.С. Кудабеева, С.Р. Джафарова | 150 |
| ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТОВ ИЗ ГРУППЫ ПРОСТРАНСТВЕННО ЗАТРУДНЕННЫХ ФЕНОЛОВ П.П. Щегинин, А.П. Щегинина | 153 |

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ И РЕПАРАЦИЯ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ
ДНК В ФИБРОБЛАСТАХ ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНОЙ МЕЗОДЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА**

А.В. Агаб¹, С.А. Васильев²

Научный руководитель: к.б.н. С.А. Васильев

¹ Сибирский государственный медицинский университет,

² НИИ медицинской генетики,

Россия, г. Томск, Московский тракт, 2, 634050

E-mail: alenasafonva@rambler.ru

**DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION AND DNA REPAIR OF DOUBLE STRAND BREAKS IN THE
HUMAN FIBROBLASTS OF EXTRAEMBRYONIC MESODERM**

A.V. Agab¹, S.A. Vasilyev²

Scientific Supervisor: S.A. Vasilyev, PhD

¹Siberian State Medical University,

²Research Institute of Medical Genetics,

Russia, Tomsk, Moskovsky trakt, 2, 634055

E-mail: alenasafonva@rambler.ru

Abstract. *It is known that the phosphorylation of the H2AX histone to form γ H2AX foci has been shown to be a biomarker of radiation exposure in human cells and correlated with effectiveness of DNA repair of double strand breaks. Furthermore, spontaneous and radiation induced γ H2AX foci levels are characterized by significant variability for each organism. Here, we present and discuss the interrelation between level of γ H2AX and gene expression (WHSC1, THBS1, ADAMTS1, RBFOX2) in the human fibroblasts of extraembryonic mesoderm. It was shown that expression of ADAMTS1, WHSC1, RBFOX2 genes correlated with spontaneous level of γ H2AX foci, whereas THBS1 expression correlated only with level of residual radiation-induced γ H2AX foci.*

Большинство современных методов оценки индивидуальной радиочувствительности человека основываются на анализе эффективности репарации ДНК. Разрабатываемые в мире способы определения индивидуальной радиочувствительности человека в основном базируются на определении генетической компоненты. Однако это не позволяет учитывать физиологическое состояние организма в момент облучения. В последние же годы наиболее перспективной является оценка индивидуальных особенностей системы репарации ДНК, так как она позволяет учитывать и генетическую компоненту, и влияние мутагенов. Одним из способов регистрации повреждений ДНК является оценка флуоресцентных фокусов белков репарации двунитевых разрывов ДНК. Они являются динамическими структурами, содержащими тысячи копий белков, участвующих в различных этапах репарации двунитевых разрывов ДНК и передаче сигналов. Среди белков, участвующих в образовании радиационно-индуцированных фокусов, особое значение придается фосфорилированному гистону (γ H2AX). Ранее в наших исследованиях была показана обратная зависимость частоты индуцированных микроядер в лимфоцитах периферической крови человека после воздействия радиации *in vitro* от спонтанного количества фокусов

γ H2AX [1]. Кроме того, при помощи полнотранскриптомного анализа, были обнаружены значимые отличия экспрессии целого ряда генов в лимфоцитах периферической крови между радиочувствительными и радиорезистентными индивидами с различным спонтанным уровнем фокусов γ H2AX, однако данные результаты требуют подтверждения на другом типе соматических клеток человека. Поэтому, целью настоящей работы стало выявление экспрессионных маркеров индивидуальной радиочувствительности и прояснение механизма сигналинга γ H2AX в ответ на повреждение ДНК в фибробластах экстраэмбриональной мезодермы человека.

Объектом исследования были 14 первичных линий фибробластов экстраэмбриональной мезодермы медицинских абортусов. Медицинский аборт был сделан по социальным показаниям из-за нежелания матери сохранить беременность. Фибробласты были заморожены и хранились (при -70°C) в клеточном банке при НИИ медицинской генетики (г. Томск). Каждый образец был разделен на контроль и опытные образцы, на которые воздействовали γ излучением в дозе 1 Гр на базе Томского НИИ онкологии.

Анализ уровня фокусов γ H2AX в необлученных образцах и в фибробластах через 24 часа после облучения осуществлялся при помощи иммуноферментного окрашивания, с использованием первичных моноклональных мышиных антител к белку γ H2AX (Novus). Вторичными антителами, несущими флуорохромы, были кроличьи антитела к иммуноглобулинам мыши (Novus), конъюгированные с родамином. Оценка экспрессия генов *ADAMTS1*, *THBS1*, *WHSC1*, *RBFOX2* осуществлялась с помощью ПЦР в реальном времени с TaqMan пробамии на первой цепи кДНК, полученной в реакции обратной транскрипции, по отношению к экспрессии генов-рефери *ACTB* и *GAPDH*. Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи программного обеспечения STATISTICA 8.0.

Уровень экспрессии всех генов после облучения оставался неизменным, кроме гена *WHSC1*, экспрессия которого повышалась после воздействия γ -излучения ($p < 0,05$). Наблюдалась значимая корреляция экспрессии гена *ADAMTS1* и генов *WHSC1* ($R=0,57$, $p < 0,05$) и *RBFOX2* ($R=0,59$, $p < 0,05$) в контрольных образцах, тогда как в облученных образцах корреляция наблюдалась только между экспрессией генов *ADAMTS1* и *WHSC1* ($R=0,57$, $p < 0,05$). Таким образом, исследуемые гены частично коэкспрессировались в фибробластах экстраэмбриональной мезодермы человека.

Была выявлена положительная корреляция спонтанного уровня фокусов γ H2AX с экспрессией генов *ADAMTS1* ($R=0,80$; $p < 0,001$), *WHSC1* ($R=0,83$; $p < 0,001$), *RBFOX2* ($R=0,75$; $p=0,003$) в необлученных клетках и экспрессией генов *ADAMTS1* ($R=0,67$, $p=0,013$), *WHSC1* ($R=0,73$; $p=0,005$), *RBFOX2* ($R=0,58$; $p=0,037$) в клетках после облучения. Это указывает на изменение экспрессии генов *ADAMTS1*, *WHSC1* и *RBFOX2* пропорционально увеличению спонтанного уровня фокусов γ H2AX. Следует отметить, что в выявленной связи между спонтанным уровнем фокусов и экспрессией каждого из генов причиной может быть как спонтанный уровень фокусов, так и экспрессия гена. При вычитании из всех остаточных фокусов через 24 ч после облучения соответствующего уровня спонтанных фокусов был вычислен уровень остаточных фокусов, являющихся следствием воздействия радиации. Примечательно, что была обнаружена значимая отрицательная корреляция данного показателя с экспрессией гена *THBS1* ($R=-0,72$, $p=0,0055$) в контроле, не связанной отдельно с уровнем фокусов в контроле и после облучения. Отрицательная корреляция с уровнем экспрессии гена *THBS1* сохранялась и после облучения, но была не значимой ($R=-0,43$, $p=0,14$), что указывает на связь между экспрессией гена *THBS1* и эффективностью репарации, а значит, чем выше будет экспрессия гена *THBS1*, тем эффективнее будет проходить процесс

репарации двуниевых разрывов ДНК. Действительно, наблюдалась положительная корреляция между этими переменными, хотя она и не достигала статистической значимости ($R=0,57$, $p=0,065$).

Единственным из исследованных генов, для которого известна его роль в формировании фокусов белков репарации двуниевых разрывов ДНК, является *WHSC1*. Его продукт принимает участие в модификации хроматина для обеспечения сборки фокусов γ H2AX при репарации ДНК [2]. Следовательно, можно предположить, что повышение экспрессии гена *WHSC1* может приводить к повышению уровня фокусов γ H2AX, и как следствие способствовать репарации двуниевых разрывах ДНК. Роль остальных исследованных генов в формировании фокусов γ H2AX остается неясной и, по имеющимся в литературе данным, лишь косвенно может быть связана с ответом на воздействие радиации. Ген *THBS1* кодирует белок тромбоспондин 1, который через его рецептор CD47 потенциально может изменять радиочувствительность клеток [3]. Ген *ADAMTS1* принимает участие в воспалении, является ингибитором ангиогенеза, принимает участие в заживлении ран, регуляции дифференцировки кретиноцитов и миграции фибробластов и эндотелиальных клеток [4]. Что касается гена *RBFOX2*, то его корреляция с другими генами может быть результатом его работы, как регулятора альтернативного сплайсинга. Возможно, в результате его способности влиять на транскрипционную и репрессивную активность, данный ген способен приводить к изменению профиля экспрессии генов, в том числе и *WHSC1* и *ADAMTS1*.

Таким образом, экспрессия генов *ADAMTS1*, *WHSC1*, *RBFOX2* связана с уровнем фокусов γ H2AX в фибробластах экстраэмбриональной мезодермы человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильев С.А., Величевская А.И., Вишневецкая Т.В., Беленко А.А., Грибова О.В., Плаксин М.Б., Старцева Ж.А., Лебедев И.Н. Фоновое количество фокусов γ H2AX в клетках человека как фактор индивидуальной радиочувствительности // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2015. - Т 55. - № 4.- С. 402-410.
2. Hartlerode, A. J., Morgan, M. J., Wu, Y., Buis, J., & Ferguson, D. O. (2015) Recruitment and activation of the ATM kinase in the absence of DNA-damage sensors. *Nature structural & molecular biology*, no. 22, pp. 736-743.
3. Isenberg, J. S., Ridnour, L. A., Dimitry, J., Frazier, W. A., Wink, D. A., Roberts, D. D. (2006) CD47 is necessary for inhibition of nitric oxide-stimulated vascular cell responses by thrombospondin-1. *Journal of Biological Chemistry*, no. 281, pp. 26069-26080.
4. Krampert M., Kuenzle S., Lee N., Iruela-Arispe M.L., Werner S. (2005) ADAMTS1 proteinase is up-regulated in wounded skin and regulates migration of fibroblasts and endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, no. 280, pp. 23844-23852.

**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АСИММЕТРИИ И ПРОСТРАНСТВЕННОГО
ВОСПРИЯТИЯ У ДЕТЕЙ С ОРГАНИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ
СИСТЕМЫ**

Р.М. Акбиров, Е.А. Катерисова

Научный руководитель: доцент, к.б.н. Н.Г. Блинова

Кемеровский Государственный Университет,

Россия, г. Кемерово, ул. Красная, 6, 650043

E-mail: jokswer@gmail.com

**FEATURES OF A FUNCTIONAL ASYMMETRY AND SPATIAL PERCEPTION OF CHILDREN
WITH ORGANIC LESIONS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM**

R. M. Akbиров, E.A. Katerisova

Scientific Supervisor: assistant professor, candidate of biology, N.G. Blinova

Kemerovo State University, Kemerovo, Krasnaya st., 6, 650043

E-mail: jokswer@gmail.com

***Abstract.** The article examines the characteristics of the psychophysiological development of children with organic brain damages. It is shown that children with organic damages of a brain are characterized by a low lateralization of a brain and low level of space perception.*

Исследования функциональной асимметрии мозга у детей с органическими поражениями центральной нервной системы представляет научно-исследовательский интерес, поскольку дают представление о развитии у таких детей межполушарных отношений, и практический интерес, т. к. имеет огромное значение при их обучении и социализации. Характерной особенностью детей с различными психическими заболеваниями является наличие у них задержки функциональной латерализации коры больших полушарий, значительного нарушения психомоторного развития, поражение ассоциативных зон коры головного мозга, приводящее, как правило, к умственной отсталости разной степени [5,6]. Для того чтобы минимизировать действия этих факторов в дальнейшем на психофизиологическое развитие детей необходима своевременная диагностика и соответствующая коррекционно-развивающая работа.

С целью изучения особенностей психофизиологического развития детей с органическими нарушениями центральной нервной системы было проведено психофизиологическое обследование 50 учащихся 1–х классов общеобразовательной школы психолого-педагогической поддержки г. Кемерово. Проводилось исследование функциональной асимметрии мозга (ФАМ) по методу Брагиной Н.Н. и Доброхотовой Т.А. [1] и особенностей пространственного восприятия по методике Забрамной С.Д. [3].

Все обследуемые дети имели интеллектуальную недостаточность и задержку речевого развития, обусловленные наличием психических заболеваний: олигофрения, синдром Дауна и аутизм. При исследовании ФАМ установлены достоверно высокие показатели коэффициентов моторной, сенсорной и общей асимметрии мозга у девочек по сравнению с мальчиками, свидетельствующих о доминировании левого полушария у девочек и функциональной симметрии мозга у мальчиков (табл. 1).

Таблица 1

Особенности функциональной асимметрии мозга у детей с органическими поражениями мозга

| Показатели | Мальчики n=39 | Девочки n=21 | P<0,05 |
|-------------------------|------------------|-----------------|--------|
| Моторная асимметрия, % | 8,65±4,5 | 23,86±5,6 | * |
| Сенсорная асимметрия, % | 8,29±5,9 | 22,73±6,2 | * |
| Общая асимметрия, % | 8,31±3,9 | 23,27±3,6 | * |

Полученные особенности ФАМ у девочек согласуются с данными исследователей, отмечающих особенность реагирования левого полушария у олигофренов, проявляющуюся в недифференцированности невербальной деятельности левого полушария, характерной для правого полушария, вследствие чего оно не может заниматься присущей ему абстрактно-логической деятельностью, что и считается причиной умственной отсталости [6]. У обследуемых мальчиков, по всей видимости, происходит задержка латерализации полушарий мозга, о чем говорят низкие значения коэффициентов моторной и сенсорной асимметрий мозга, в то время как у нормальных детей к этому возрасту уже происходит дифференцировка по этим показателям [2]. Процентное распределение детей по индивидуальному профилю асимметрии мозга показывает, что половина девочек и мальчиков имеет неопределенный профиль асимметрии, свидетельствующее об отставании в развитии ФАМ (рис. 1). Показано, что дети с поражением мозга отличаются от своих сверстников низким уровнем комиссуральных связей между большими полушариями мозга, приводящем к нарушению созревания и взаимодействия межполушарных связей на поздних этапах онтогенеза [5]. Наличие у трети мальчиков и около 40% девочек левостороннего профиля индивидуальной асимметрии мозга обусловлено, как правило, нарушениями функций левого полушария, проявляющимися в глобальном, недифференцированном реагировании левого полушария на значимые и незначимые стимулы зрительного восприятия [6].

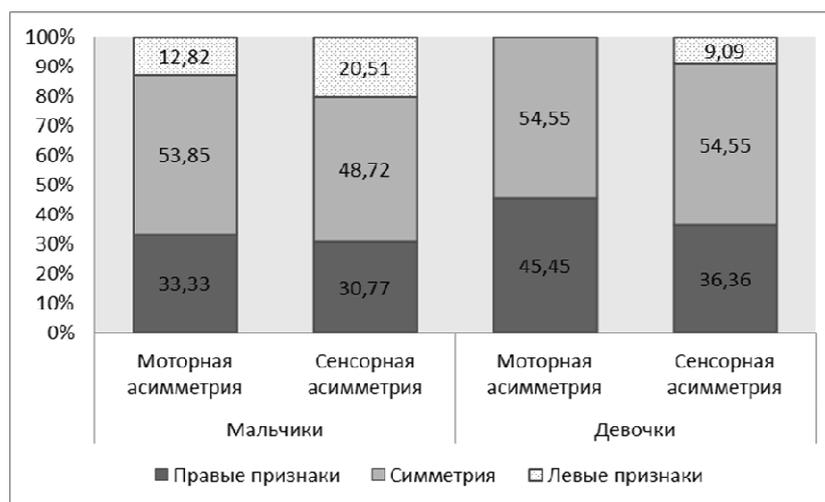


Рис. 1. Процентное распределение детей с органическими нарушениями мозга на группы по преобладанию латеральных признаков функциональной асимметрии мозга

Показано, что дети с умственной отсталостью обладают слабой способностью пространственной ориентации по сравнению со здоровыми детьми, что обусловлено низким уровнем ориентации умственно отсталого ребенка "на себе". [5]. Результаты исследования показали, что обследуемые дети лучше различают понятия верх-низ – 60% мальчиков и 70% девочек показали средний и высокий уровень пространственной ориентировки, а наименее сформированной оказывается ориентировка в таких дифференцированных отношениях, как справа – слева (у 50% низкий уровень), что совпадает с неуверенным различением правого и левого направлений (рис. 2).

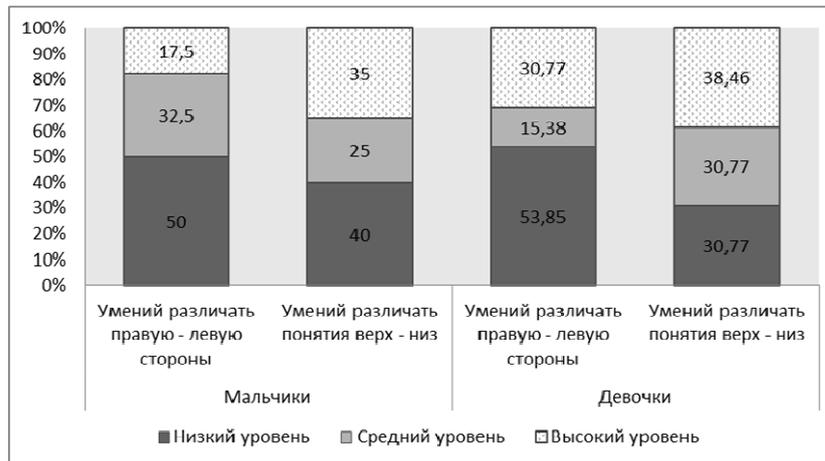


Рис. 2. Процентное распределение детей с органическими нарушениями мозга на группы по уровню пространственного восприятия

Данное исследование показывает, что дети 8-9 лет с поражением мозга различной этиологии отличаются от своих сверстников отставанием в развитии функциональной асимметрии мозга, приводящей к меньшей выраженности латерализации мозга, глобальной недифференцированности невербальной деятельности левого полушария, низким уровнем развития пространственного восприятия, особенно пространственной ориентировки в таких дифференцированных отношениях, как справа – слева.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брагина Н.Н., Доброхотова Т.А. Функциональные асимметрии человека. - М.: Медицина, 1988.
2. Гольдшмидт Е.С. Особенности функциональной асимметрии мозга у учащихся в зависимости от социально педагогических условий: Автореф. дис. канд. биологич. наук. – Томск, 2005. – 21 с.
3. Забрамная С.Д. Психологическая диагностика умственного развития детей. - М.: Просвещение: Владос, 1995. – 36 с.
4. Лурия А. Р. Высшие корковые функции человека и их нарушение при локальных поражениях мозга. — М.: МГУ, 1969; М.: Академический проект, 2000.
5. Микадзе Ю. В., Корсакова Н. К. Нейропсихологическая диагностика и коррекция младших школьников. - М.: ИнтелТех, 1994. - 46 с.
6. Фишман М.Н. Функциональное состояние коры и регуляторных структур ствола у детей с нарушениями речевого развития // Физиология человека. – 2001. – Т. 27. - №5. С. 30–34.

БРАСЛЕТ-МОНИТОР АРИТМИИ

А.А. Бояхчян, К.В. Оверчук, А.А. Уваров

Научный руководитель: к.т.н., доцент каф. ФМПК И.А. Лежнина

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: bojahchyan@yandex.ru

ARRHYTHMIA WRISTBAND

A.A. Boyakhchyan, K.V. Overchuk, A.A. Uvarov

Scientific Supervisor: Ph.D. I.A. Lezhnina

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: bojahchyan@yandex.ru

***Abstract.** In the last few years, the demand to telemedicine market has grown and growing. One of the reasons is the fact that cardiovascular diseases are leading in the structure of deaths in the world and created a different number of gadgets for monitoring the heart health. But most of such devices are designed for fun and sports, but not for medical purposes. For this purpose it was decided to make a device for medical purposes.*

Основной причиной смертности во всем мире, а именно 30 % от общего количества смертей в год приходится на сердечно-сосудистые заболевания, из них 50 % приходится на внезапную сердечную смерть, которая более чем в 80 % начинается с аритмии и фибрилляции сердца [1]. Аритмия носит эпизодический характер и проявляется хаотично. Подобные эпизоды аритмии трудно поймать на ЭКГ.

Как возможное решение данной проблемы, существуют различные фитнес-трекеры и пульсометры, но они не позволяют регистрировать ЭКГ, в результате чего невозможно определить характер аритмии. Большинство пульсометров плохо работает в условиях нестационарного ритма и не адаптировано под медицинское применение [2,3].

С этой целью разрабатывается браслет-монитор для постоянного ношения, который будет выявлять эпизоды аритмии, проводить регистрацию ЭКГ и внезапной сердечной смерти.

Для того чтобы получить стабильную ЭКГ используются точки на теле, расположенные друг от друга на достаточно большом расстоянии и находящиеся по разные стороны от электрической оси сердца. Разработка измерительного браслета требует регистрации сигнала по одной точке и создания соответствующей измерительной системы. Ожидается, что форма такого сигнала будет значительно отличаться от первого стандартного отведения, но даст возможность определить фазы сокращения и расслабления сердечной мышцы и ее частей для диагностики аритмии.

На данный момент разработана измерительная схема первичный макет устройства (Рис.1). С полученным макетом проведены эксперименты по снятию ЭКГ.

Эксперименты проводились с целью выявления оптимальной точки на руке человека для снятия ЭКГ, т.е. необходимо было найти точку, с которой сигнал был бы наиболее сильным и четким. Для снятия ЭКГ использовались обыкновенные медицинские электроды (AgCl). Электроды прикреплялись к плечу и,

начиная с этого положения, записывалась ЭКГ, далее электроды переклеивались чуть ниже и, снова регистрировалась ЭКГ и так вплоть до запястья. Одновременно ЭКГ регистрировалась с груди, т.к. при ранее проведенных экспериментах было доказано, что сигнал, полученный с груди наиболее сильный, поэтому ЭКГ снятое с груди можно использовать как эталон для сравнения с остальными записями.

На рис.1 изображена электрокардиограмма с грудного отведения, а также с бицепса левой руки. ЭКГ полученные с бицепса инвертированы по отношению к ЭКГ с груди, но R-зубцы совпадают, а также слабые миографические помехи позволяют разглядеть довольно сильный сигнал.

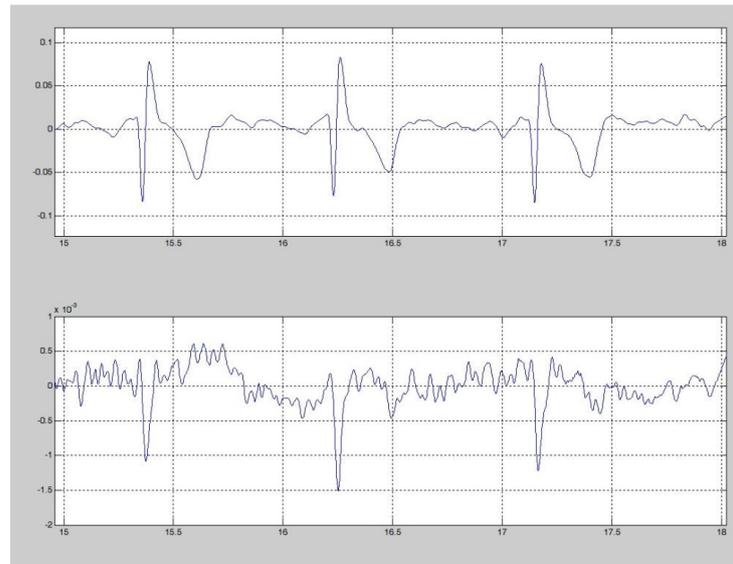


Рис.1. ЭКГ полученные с груди (сверху) и с бицепса левой руки (снизу)

На следующем графике (Рис.2) ЭКГ снималась с запястья руки и с груди. Сигнал с запястья очень слабый, за миографическими помехи его совсем не видно, даже после фильтраций. В дальнейшем необходимо провести эксперименты, предварительно скорректировать схему, для усиления сигнала.

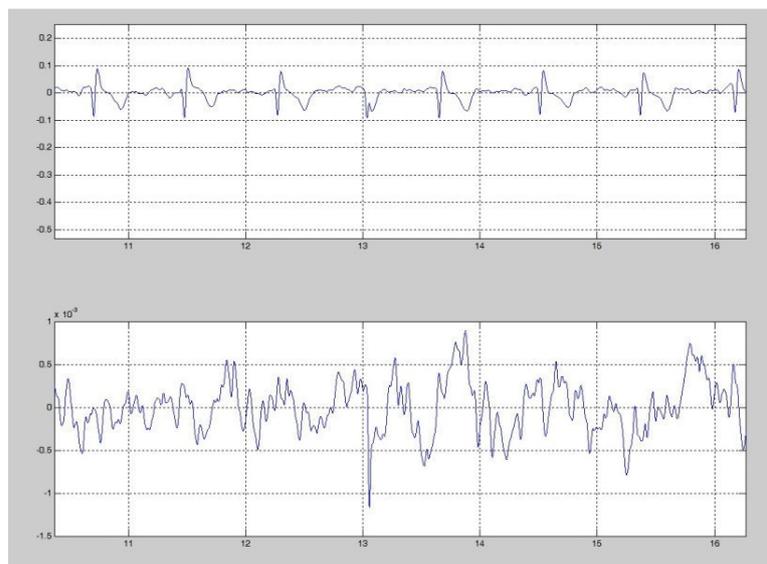


Рис.2. ЭКГ полученные с груди (сверху) и с запястий левой руки (снизу)

На последнем изображении (Рис.3) ЭКГ снималась с запястий обеих рук и с груди. Эксперимент показал, что такой сигнал наиболее сильный и четкий, помехи практически не наблюдаются.

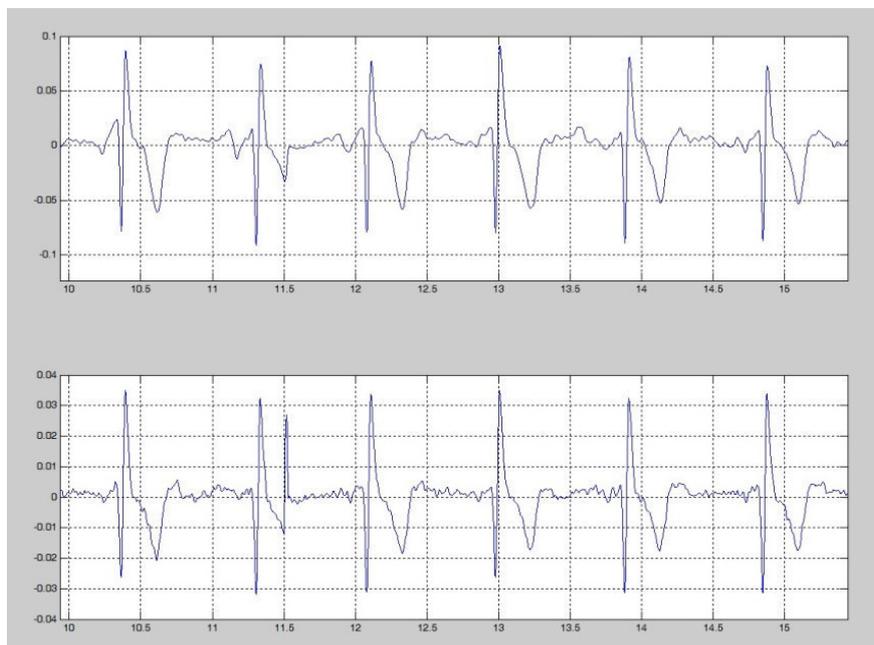


Рис.3. ЭКГ полученные с груди (сверху) и с запястья правой и левой руки (снизу)

В дальнейшем планируется разработка устройства в форме браслета либо манжеты на плечо. Так как прибор разрабатывается для регулярного ношения, устройство должно быть удобным и миниатюрным, чтобы не мешать человеку. Также, необходимо подобрать комплектующие таким образом, чтобы сохранить полноценный функционал, но при этом потреблять минимальное количество энергии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global Telemedicine Market (2015-2019), Mordor Intelligence, August 31, 2015
2. Солдатов В.С., Бояхчян А.А., Уваров А.А., Оверчук К.В., Обзор беспроводных датчиков для электрофизиологической диагностики, ТПУ, 2015
3. Estes N.A. 3rd. Predicting and preventing sudden cardiac death // Circulation. – 2011. – Vol. 124, № 5. – P. 651–656.

**СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УЗНАВАНИЯ AP-САЙТОВ В ДНК AP-ЭНДОНУКЛЕАЗОЙ
ZAPE ИЗ DANIO RERIO**

К. А. Вабищевич

Научный руководитель: доцент, к.х.н. В. В. Коваль
Новосибирский государственный педагогический университет, Россия,
г. Новосибирск, ул. Вилюйская, 28, 630126
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
Россия, г. Новосибирск, пр-кт академика Лаврентьева, 8, 630090
E-mail: Ksenia.Vabishchevich@niboch.nsc.ru

**STRUCTURAL FEATURES OF ABASIC SITES RECOGNITION IN DNA BY AP
ENDONUCLEASE ZAPE FROM DANIO RERIO**

K. A. Vabishchevich

Scientific Supervisor: V. V. Koval
Novosibirsk state pedagogical university, Russia, Novosibirsk, Vilyuyskaya st., 28, 630126
Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS
8 Lavrentiev Avenue, Novosibirsk, 630090, Russia
E-mail: Ksenia.Vabishchevich@niboch.nsc.ru

Abstract. *Understanding the molecular mechanisms of protein-nucleic acids interactions is a primary goal of modern structural biology. Molecular basis of its specificity lies in conformational properties of a protein, its target DNA site, and the changes that ensue as a consequence of their interaction. In this study, using molecular dynamics simulation we analyzed the active site organization and the catalytic mechanism of zApe from Danio rerio (Zebrafish) acting on DNA substrates containing AP sites. Using detailed molecular dynamics simulations we have attributed structural distortions of AP-DNA to realization of specific binding, effective locking, and incision of the damaged DNA. The role of enzyme and DNA conformational flexibilities has been established in connection with the accessibility of the active site, the binding of substrates and ligands, and release of products, stabilization and trapping of intermediates, orientation of the substrate into the binding cleft, adjustment of the reaction environment. These findings allowed us to consider zApe-DNA complex as networks of continuous motions, which reflect local flexibility and ability for global structural plasticity.*

Участие AP-эндонуклеаз в процессах эксцизионной репарации оснований является биологически значимым путем репарации окислительных повреждений ДНК. Белок zApe из *Danio rerio* (Zebrafish) расщепляет содержащие AP-сайты ДНК-дуплексы.

С целью выяснить, какие аминокислотные остатки в активном центре фермента zApe участвуют в узнавании AP-сайта в ДНК, мы провели молекулярное моделирование комплексов фермента с ДНК-дуплексом, содержащим AP-сайт.

К настоящему моменту ни 3D-структура фермента, ни структурные особенности узнавания zApe повреждений в ДНК не известны. Первая часть работы, предшествующая MD-симуляции, состояла из

трёх последовательных стадий: получение координат аминокислотных остатков в zApe; создание и оптимизация структуры ДНК-дуплекса, связанного с ферментом (в центральной части дуплекс содержит остаток тетрагидрофурана); определение положения и количества ионов Mg^{2+} , связанных в активном центре фермента.

Стартовую структуру zApe получали с помощью protein homology/analogy recognition engine Phyre [1, 2]. В качестве шаблона для моделирования по гомологии был выбран файл 1DE9 [3]. Полученная в результате структура содержала координаты аминокислот zApe и была использована для MD симуляции.

Структуру ДНК-дуплекса получали, редактируя с помощью UCSF Chimera [4] дуплекс из работы [5] (PDB ID: 2NQJ). В результате из исходного 15-звенного дуплекса был получен 12-звенный дуплекс требуемой последовательности, содержащий вывернутый из спирали остаток аналога AP-сайта.

Расположение и количество каталитически важных ионов Mg^{2+} рассчитывали с помощью RaptorX-Binding server [6] и проводили верификацию их положения с использованием CheckMyMetal server [7]. При редактировании стартового PDB файла, используемого для моделирования, ионы Mg^{2+} помещали в структуру zApe, руководствуясь данными по координации ионов металлов в белках [8]. Полученную структуру подвергали минимизации, позволяя ионам металла и координирующим их аминокислотам занять оптимальные конформации. Общий вид полученного комплекса приведен на рис. 1.

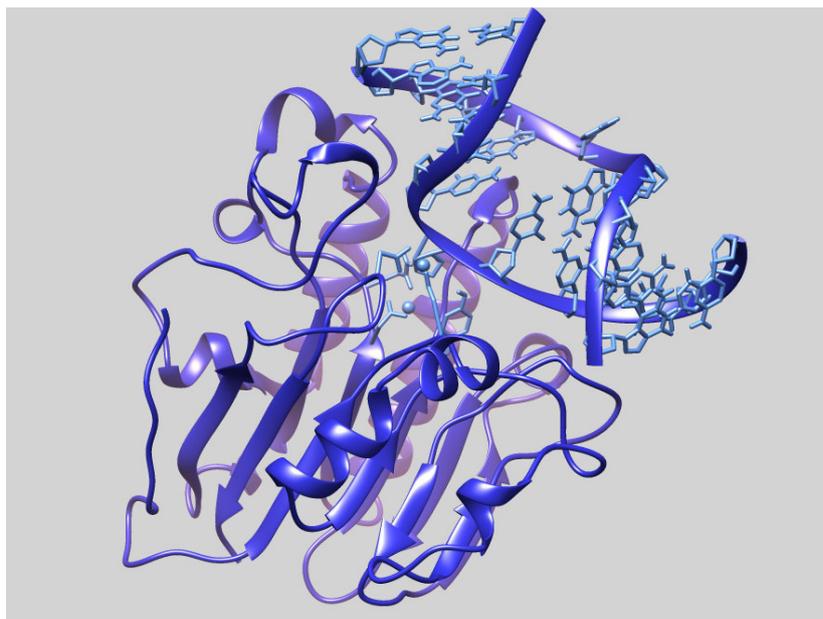


Рис. 1. Общий вид комплекса фермента zApe с ДНК-дуплексом, содержащим AP-сайт

В работе показано, что ионы Mg^{2+} принимают непосредственное участие в координации в активном центре фермента вывернутого из двойной спирали ДНК AP-сайта. Кроме того, они участвуют в формировании переходного состояния вследствие перераспределения электронной плотности на фосфате рядом с расщепляемой связью. Результаты моделирования показывают, что в связывании Mg^{2+} принимают участие кислороды фосфатной группы AP-сайта ДНК (рис. 2).

Молекулярное моделирование комплекса zApe с ДНК по механизму молекулярной динамики проводили с помощью программного пакета AMBER 12. Длительность молекулярно-динамической траектории составила 100 нс.

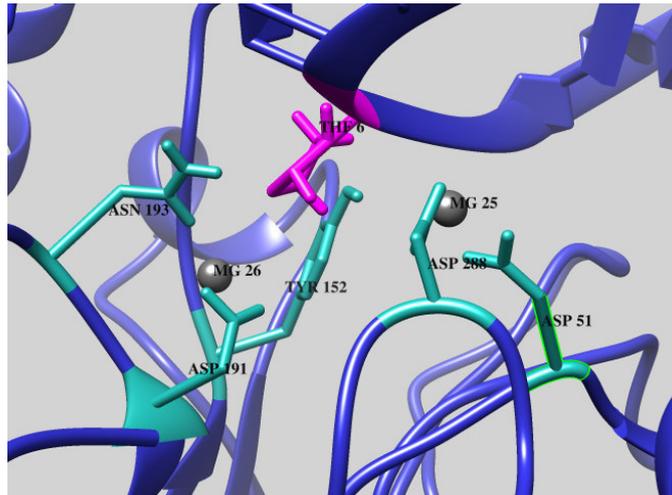


Рис. 2. Схема взаимодействия остатка тетрагидрофурана с аминокислотными остатками zApe и координирующими их двумя ионами магния

Полученные данные позволяют нам рассматривать комплекс zApe - ДНК как сеть непрерывных взаимодействий, которые отражают локальную подвижность и способность комплекса к глобальной структурной пластичности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kelley, L. A., Sternberg, M. J. E. (2009). Protein structure prediction on the web: A case study using the Phyre server. *Nature Protocols*, no. 4, pp. 363-371.
2. Bennett-Lovsey, R. M., Herbert, A. D., Sternberg, M. J., Kelley, L. A. (2008). Exploring the extremes of sequence/structure space with ensemble fold recognition in the program Phyre. *Proteins*, no. 70, pp. 611-625.
3. Mol, C. D., Izumi, T., Mitra, S., Tainer, J. A. (2000). DNA-bound structures and mutants reveal abasic DNA binding by APE1 and DNA repair coordination. *Nature*, no. 403, pp. 451-456.
4. Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, no. 25, pp. 1605–1612.
5. Garcin, E. D., Hosfield, D. J., Desai, S. A., Haas, B. J., Björas, M., Cunningham, R. P., Tainer, J. A. (2008). DNA apurinic-apyrimidinic site binding and excision by endonuclease IV. *Nature Structural Molecular Biology*, no. 15, pp. 515-522.
6. Källberg, M., Wang, H., Wang, S., Peng, J., Wang, Z., Lu, H., Xu, J. (2012). Template-based protein structure modeling using the RaptorX web server. *Nature Protocols*, no. 7, pp. 1511–1522.
7. Zheng, H., Chordia, M. D., Cooper, D. R., Chruszcz, M., Müller, P., Sheldrick, G. M., Minor, W. (2014). Validation of metal-binding sites in macromolecular structures with the CheckMyMetal web server. *Nature Protocols*, no. 9, pp. 156-170.
8. Harding, M. M. (2001). Geometry of metal-ligand interactions in proteins. *Acta Crystallographica*, no. 57, pp. 401-411.

**СОВРЕМЕННЫЕ ТЕПЛОВИЗИОННЫЕ МЕТОДЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ, ДИАГНОСТИКИ
И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОМЕДИЦИНЕ**

Б.Г. Вайнер

Институт физики полупроводников им. А.В.Ржанова СО РАН,
Новосибирский государственный университет
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 13, ИФП СО РАН
E-mail: BGV@isp.nsc.ru

**INFRARED THERMOGRAPHY-BASED RECENT METHODS FOR BIOMEDICAL IMAGING,
DIAGNOSTICS AND QUANTITATIVE RESEARCH**

Boris G. Vainer

Rzhanov Institute of Semiconductor Physics SB RAS, Novosibirsk State University
Russia, 630090, Novosibirsk, 13 Lavrentyev av., ISP SB RAS
E-mail: BGV@isp.nsc.ru

***Abstract.** Infrared thermography (IRT) state-of-the-art and a review of the recent applications of this technique to biomedical problems, including medicine and physiology, are presented. The great majority of the IRT-based methods and investigative approaches discussed in this presentation are ingenious; they were elaborated and first tested in the Author's research group. Among them are interventional infrared thermal diagnostics, variance IRT, sorption-enhanced IRT for human or animal respiration analysis, etc. The review brings out clearly that IRT is a highly accurate, informative and independent research and diagnostic tool very relevant today to experimental medicine and biology.*

Температура служит одной из важнейших физических характеристик, наиболее представителью отражающих особенности протекания процессов жизнедеятельности в организме человека и животных. Ее относительное повышение или понижение в локальных областях тела определяется взаимосвязью таких физиологических явлений, как теплопродукция, теплообмен и терморегуляция [1]. У гомойотермных организмов механизмы терморегуляции не только управляют внутренними тепловыми потоками, но и контролируют процессы теплообмена с окружающей средой, который в существенной степени реализуется через поверхность тела. В этой связи, экспериментальные методы, предоставляющие возможность в реальном масштабе времени регистрировать и позволяющие количественно анализировать изменения температурной карты поверхности тела, представляют собой мощный диагностический инструмент в биомедицине.

Таким наиболее адекватным для биологической науки инструментом является тепловидение, технические принципы которого основаны на преобразовании теплового излучения, испускаемого объектом, в электрические сигналы, подлежащие затем аппаратной и компьютерной обработке с целью извлечения полезной информации. Необходимо акцентировать внимание на том, что сегодня исходный смысл термина «тепловидение» всё больше уходит в прошлое. Если еще в 70-х–80-х годах предыдущего столетия сама возможность визуализировать невидимое тепловое (инфракрасное) излучение

рассматривалась как большой успех, позволяющий существенно расширить возможности медицинской диагностики [2], то на современном этапе встречающиеся пока еще в достаточном количестве попытки ограничить возможности метода лишь рамками визуализации можно образно назвать «каменным веком».

За последние 20 лет произошли кардинальные изменения в биомедицинском тепловидении. Прежде всего, здесь в свободном доступе появились новые тепловизионные камеры с фотоприемниками в виде двумерной матрицы изображения, исключившие, в результате, необходимость использования в своем составе громоздкой системы оптико-механического сканирования. При достигнутом с помощью новых приборов фотографическом качестве теплового изображения эта "техническая революция" позволила стандартной тепловизионной аппаратуре вплотную подобраться к температурной чувствительности на уровне 0.01 °С при быстродействии порядка 100 кадров в секунду, что являлось недостижимым для приборов прежних поколений. Кроме того, в матричных тепловизорах в полную силу стали использовать достижения компьютерной техники. В результате, те двумерные термограммы, которые раньше представлялись исследователю лишь на экране монитора, теперь стали сохраняться и обрабатываться в цифровом виде, что качественно повысило ценность и объективность тепловизионных данных.

Наконец, применение вышеописанной новой техники с компьютерной поддержкой инициировало разработку и внедрение в биомедицину новых методов тепловизионного исследования, включающих новые подходы с привлечением математической обработки полученных термограмм [3–5] и синхронного применения дополнительных аппаратных способов диагностики. Последнее позволило с помощью соответствующего программного обеспечения устанавливать степень корреляции и согласованности измеряемых биоданных [6]. Новые подходы предоставили возможность извлекать из тепловизионных результатов принципиально новую информацию, технически недоступную или скрытую от пользователей прежних тепловизоров.

В представленном обзорном докладе наглядно продемонстрированы новые возможности современного тепловидения и показаны его преимущества по сравнению с прежним уровнем и типовыми стандартами, общепринятыми для ранней эпохи применения этого метода в биомедицинской сфере. Проиллюстрирован метод дистанционной тепловизионной дисперсии («*variance IRT*» [7]), способный оказаться полезным при диагностике больных с тремором и иными видами синдрома непроизвольных движений, в частности, при болезни Паркинсона. Изложены принципы и представлены примеры реализации высокоперспективного подхода с предложенным названием «интервентная тепловизионная диагностика», ориентированного, в первую очередь, на использование в медицине и физиологии. Приведены результаты оригинальных научных исследований сосудистой реактивности у человека и животных и т. д. Ниже дана иллюстрация одного из примеров, отражающих содержание доклада.

К недавним успешным находкам в области методологии биомедицинского тепловидения можно отнести разработку высокоэффективного метода исследования динамики дыхания у млекопитающих [5]. С помощью предложенного подхода, обеспечивающего беспрецедентные для этой области измерений удобство, быстродействие и чувствительность, удается обнаруживать невидимые особенности при записи характеристик респираторной функции у человека и животных. В частности, путем построения фазовых диаграмм дыхания (Рис. 1) можно выявлять закономерности в многократно повторяемых дыхательных циклах, что предоставляет объективный фактический материал для физиологической интерпретации и дальнейшего исследования подобных явлений.

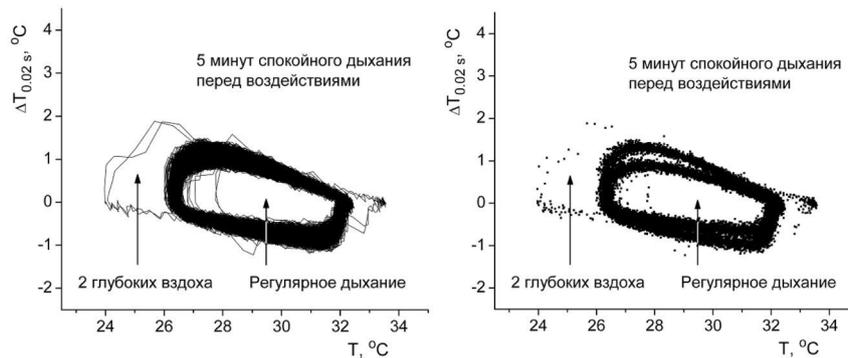


Рис. 1. Фазовая диаграмма дыхания анестезированной крысы в отсутствии внешних интервентных воздействий на организм, построенная по тепловизионному сигналу, измеренному на адсорбционном индикаторе, и отражающая приращение температуры индикатора ΔT каждые 0.02 с в зависимости от величины этой температуры T . Меньшие значения T соответствуют фазе вдоха, большие – фазе выдоха. Справа – диаграмма, аналогичная левой, представленная в виде экспериментальных точек и выявляющая двухмодовый характер периодического процесса (два «кольца»).

Суммируя, можно с уверенностью сказать, что представленный обзор содержит убедительные аргументы, гарантирующие успешное будущее матричного тепловидения в биомедицинской сфере.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-02-07680).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванов К.П. Основы энергетики организма: Теоретические и практические аспекты. Том 1. Общая энергетика, теплообмен и терморегуляция. – Л.: Наука, 1990. – 307 с.
2. Применение тепловидения в многопрофильных больницах и поликлиниках. Методические рекомендации. / Под ред. д. т. н., проф. М.М. Мирошникова. – Л., 1982. – 84 с.
3. Vainer B.G. FPA-based infrared thermography as applied to the study of cutaneous perspiration and stimulated vascular response in humans // *Phys. Med. Biol.* – 2005. – V. 50. – P. R63–R94.
4. Vainer B.G. Applications of infrared thermography to medicine. – Chapter 3 in *Infrared Thermography Recent Advances and Future Trends* / Carosena Meola, Editor // Bentham Science Publishers Ltd., Bentham e-Books, 2012. – P. 61–84.
5. Вайнер Б.Г. Новые способы исследования внешнего дыхания у животных и человека // Наука и образование в XXI веке: Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции. – Тамбов, 31 октября 2014 г. – Ч. 12. – Тамбов: ООО "Консалтинговая компания Юком", 2014. С. 35–38.
6. Вайнер Б.Г., Вергунов Е.Г., Баранов В.И., Маркель А.Л., Серяпина А.А., Кармакулова И.В. Комплексный инструментальный мониторинг динамики функционального состояния организма животного, подверженного внешним нагрузкам: изучение согласованности дыхания и сердечного ритма // Научный альманах. – 2015. – № 10-3. – С. 443–449.
7. Vainer B.G. Medicine-applicable non-steady-state phenomena inspection through the use of infrared thermography // *Quantitative InfraRed Thermography 5, Eurotherm Seminar 64, QIRT'2000, Reims, France, July 18–21, 2000. Proceedings.* – UTAP URCA, 2000. – P. 405–408.

ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СТРЕССА НА БЕЛКОВЫЙ ОБМЕН У КРЫС

К. М. Власова

Научный руководитель: к.б.н. С.В. Копылова

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского

Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, 603950

E-mail: ksyuhavlasov@rambler.ru

INFLUENCE OF THE PHARMACOLOGICAL STRESS ON PROTEOMETABOLISM AT RATS

K. M. Vlasova

Scientific Supervisor: Ass.Prof., Ph.D. S. V. Kopylova

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Russia, Nizhny Novgorod, Gagarin Ave., 23, 603950

E-mail: ksyuhavlasov@rambler.ru

***Abstract.** The aim of this work was to study the changes of main biochemical indices of protein metabolism in serum of white rats in the conditions of a pharmacological stress. The studies were conducted on healthy female albino rats (Group 1 - intact animals; for 2 group pharmacological stress was modeled by intraperitoneal injection of 0.5 mg / kg of epinephrine hydrochloride). The parameters of the total protein, albumin, creatinine and urea were defined. It has been shown that this experimental model caused a decrease in the level of total protein and albumin, with an increase in serum creatinine and urea plasma.*

Введение. В настоящее время проблематика стресса является актуальным предметом исследований совершенно различных отраслей науки: биологии, психологии, медицины, социологии и других. Сложность и многообразие форм стресса определяет многообразие подходов к изучению этого состояния. Стресс или «общий адаптационный синдром» - это совокупность общих неспецифических физиологических, психологических и биохимических реакций организма в ответ на действие стрессоров - раздражителей, чрезвычайной силы любой природы. Он направлен на обеспечение гомеостаза организма и его адаптацию к новым условиям окружающей среды [3]. При чрезмерно сильных и/или длительных воздействиях стрессора происходит нарушение работы стресс-систем, осуществляющих стресс-реакцию и развитие адаптации.

Доказана роль стресса как главного этиологического фактора язвенных поражений слизистой желудка, гипертонической болезни, атеросклероза, нарушений структуры и функции сердца, формирования иммунодефицитных состояний и злокачественных опухолей, нарушений обмена веществ [6]. К числу неблагоприятных факторов стресса следует, прежде всего, отнести необычайно длительное действие высоких доз катехоламинов и глюкокортикоидов [3]. Под влиянием глюкокортикоидов стимулируются процессы распада белка. В основе этого эффекта лежит угнетение транспорта аминокислот из плазмы крови в клетки, что вызывает торможение последующих стадий белкового синтеза. Однако, биохимический механизм, объясняющий возникновение патологических состояний под действием стрессогенных факторов различной природы, до конца не изучен [7].

Целью данной работы явилось изучение изменения основных биохимических показателей белкового обмена в сыворотке крови белых крыс в условиях фармакологического стрессирования.

Материалы и методы. Исследования проводились на самках здоровых белых беспородных крыс, средней массой 180-200 г. Животные были разделены на группы: 1 группа - интактные животные; 2 группе

моделировали фармакологический стресс путем внутрибрюшинного введения 0,5 мг/кг адреналина гидрохлорид (ФГУП «Московский эндокринный завод»). С лабораторными животными работали в соответствии с действующими «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1986).

Исследование сыворотки крови проводились при помощи полуавтономного биохимического анализатора Stat Fax 3300 в режиме проточной кюветы. При проведении тестов использовались диагностические реагенты компании SPINREACT (сертифицирована по стандартам ISO 9001-2000 и ISO 13485-2003). Определяли показатели общего белка, альбумина, креатинина и мочевины.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли на персональном компьютере с помощью программы BIOSTAT с использованием t-критерия Стьюдента с предварительной оценкой на нормальность.

Результаты и их обсуждение. В результате исследований были получены следующие данные. Содержание общего белка в сыворотке крови крыс опытной группы уменьшилось на 63%, содержание альбумина - практически на 50%, уровень креатинина увеличился на 22%, а мочевины - на 25% по сравнению с группой «интактные животные». (табл. 1).

Таблица 1

Влияние стресса на биохимические показатели сыворотки крови крыс

| Биохимия крови | единицы измерения | Интактные животные | Фармакологический стресс |
|----------------|-------------------|--------------------|--------------------------|
| Общий белок | g/L | 55,82±21,90 | 20,65±9,85* |
| Альбумин | g/dL | 4,24±0,08 | 2,14±0,34* |
| Креатинин | umol/L | 95,92±23,36 | 117,4±28,98 |
| Мочевина | mmol/L | 4,88±1,03 | 6,12±3,03 |

*Примечание: * $p \leq 0,05$ - достоверная разница опытной группы с интактной группой животных*

Адреналин, попадая в кровь, связывается с белками плазмы, и по кровотоку доставляется в различные органы. При внутрибрюшинном введении с венозной кровью через воротную систему он попадает в печень для детоксикации. Печень является органом, синтезирующим многие белки плазмы, в том числе альбумин. Содержание общего белка и альбумина в сыворотке крови являются лабораторными показателями состояния гомеостаза, зависящие от скорости синтеза в печени и выведения белка с мочой из организма. Как универсальный адреномиметик, адреналин вызывает сужение сосудов печени, что приводит к развитию гипоксии. В условиях данной экспериментальной модели интенсивность катаболических процессов в печени преобладала над анаболическими. Достоверное уменьшение содержания общего белка, и, в частности, альбумина, говорит о нарушении функциональной деятельности печени и возможном развитии печеночной недостаточности [4].

Естественными продуктами распада белков в организме являются креатинин и мочевина. Увеличение показателей креатинина и мочевины говорит о процессе повышенного распада белков и потере жидкости. Что подтверждается полученными результатами [8].

Таким образом, можно заключить, что используемая нами модель фармакологического стресса характеризуется активацией катаболических процессов с распадом белка тканей и накоплением продуктов его деградации мочевины и креатинина в плазме крови. Поскольку продукты деградации белка являются

эндотоксинами можно предположить, что они будут оказывать негативный эффект на ткани печени, замыкая «порочный круг» эндотоксикации органа [1, 5]

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анашкина А. А. Влияние ингаляции пчелиного маточного молочка и прополиса на эндогенную интоксикацию при экспериментальном отеке легких у крыс: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Нижний Новгород, 2012. – 23 с.
2. Бочков В. Н. Клиническая биохимия (Классический университетский учебник) / В. Н. Бочков, А. Б. Добровольский, Н. Е. Кушлинский и др. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — С. 512.
3. Бузунов А. Ф. Формирование соматических последствий адаптационного синдрома. Цена цивилизации. – М.: Практическая медицина, 2010. – 352 с.
4. Военная токсикология и токсикология экстремальных ситуаций: курс лекций / Ю. А. Соколов, А. П. Пантюхов. – Минск.: БГМУ, 2012. – 252 с.
5. Горячева А. А. и др. Системные эффекты экзогенного адреналина // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. 14. – №. 3.
6. Меерсон Ф.З. Высшие адаптационные реакции организма // Физиология адаптационных процессов / Ф. З. Меерсон, Р. И. Кругликов. – М.: Наука, 1986. - С. 521 - 630.
7. Патологическая физиология / В. А. Фролов, Г. А. Дроздова, Т. А. Казанская, Д. П. Билибин, Е. А. Демуров. – М.: ОАО Издательство «Экономика», 1999. – 616 с
8. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – 3-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.

ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ВРОЖДЕННЫМ ПСЕВДОАРТРОЗОМ ГОЛЕНИ

Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, С.Н. Лунева

Научный руководитель: профессор, д.б.н. С.Н. Лунева

ФГБУ "РНЦ "ВТО" им. акад. Г.А. Илизарова" Минздрава России

Россия, г. Курган, М.Ульяновой, 6, 640014

E-mail: office@ilizarov.ru

VALUE OF SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF CAICIUM-PHOSPHORUS METABOLISM IN SERUM OF PATIENTS WITH CONGENITAL PSEUDARTHROSIS SHIN

E.P. Vykhovanets, A.I. Mitrofanov, S.N. Luneva

Scientific Supervisor: Prof., Dr. S.N. Luneva

Federal State Budgetary Institution «Russian Ilizarov Center for «Restorative Traumatology and Orthopedics»

Ministry of Healthcare Russian Federation

Russia, Kurgan, M.Ulyanovoy, 6, 640014

E-mail: office@ilizarov.ru

***Abstract.** We studied the serum of patients with congenital pseudarthrosis at various stages of prosthetic treatment. It was possible to detect that the maximum change in the detected activity of acid phosphatase, and the concentration of phosphates in all stages and magnesium orthopedic treatment. The concentrations of calcium chloride are not changed.*

Врожденный псевдоартроз встречается 1 на 140000 – 190000 новорожденных и составляют 0,5 - 1 % от всей ортопедической патологии [1,2,7]. Согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) на 07.05.2014 года врожденный псевдоартроз относится к группе орфанных (редких) патологий [5]. В США Акт редких заболеваний (Rare Disease Act) 2002 года определяет редкие заболевания как «болезни и состояния, затрагивающие менее 200000 людей в США» (1 человек на 1500 случаях), в России же считают, не менее 10 случаев на 100 000 человек [3,6].

Врожденный псевдоартроз сопровождается наличием стойкой патологической подвижности на костном сегменте [4]. На сегодняшний день нет четкого представления о причинах возникновения и механизмах развития данной патологии.

Таким образом, исследование биохимических показателей состава сыворотки крови у пациентов с врожденным псевдоартрозом является актуальной проблемой на сегодняшний день.

Цель исследования: проанализировать значения показателей фосфорно-кальциевого обмена сыворотки крови больных с врожденным псевдоартрозом на различных этапах ортопедического лечения.

Материалы и методы. Работа основана на анализе биохимических показателей сыворотки крови 7 пациентов с врожденным псевдоартрозом голени, находящихся на стационарном лечении в клинике

ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. Акад. Г.А. Илизарова». Возраст больных составлял от 3 до 15 лет. Из общего числа исследованных больных мальчиков было 3 человек (42,9 %), девочек 4 человека (57,1%).

Работа выполнена на базе лаборатории биохимии и травматолого-ортопедического отделения № 4 ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. Акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России. На проведение клинических и биохимических исследований получено разрешение комитета по этике, исследования проводились в соответствии с этическими стандартами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 года, «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденной Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 года № 266. Все пациенты, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие на забор крови для проведения данного исследования, если количество крови, взятое для работы, укладывается в количество необходимое для обычных биохимических исследований.

Биохимические методы исследования сыворотки крови. Были исследованы следующие биохимические показатели: ферменты – щелочную (ЩФ) и кислую фосфатазы (КФ); электролиты – кальций, магний, фосфаты, хлориды. Забор венозной крови у пациентов осуществляли: до операции, 3 – 5 дней после операции, 7 – 10 дней после операции, 12 -14 дней после операции и 30 дней после операции.

Венопункцию осуществляли утром натощак в вакуумный приемник емкостью 9 мл. Из венозной крови готовили сыворотку обычным методом (инкубация при комнатной температуре 30 мин, центрифугирование при частоте вращения 1500 об/мин). Полученную сыворотку исследовали в тот же день. Содержание общего кальция, неорганического фосфата, магния определяли на автоматическом анализаторе Hitachi 902 (США), используя наборы фирмы «Vital Diagnostics Spb». Для исследования активности щелочной фосфатазы, кислой фосфатазы использовали наборы фирм «Vital Diagnostics Spb» и анализатор «StatFax 1904 Plus» (США). С целью повышения информативности показателей электролитного обмена рассчитывали системный индекс электролитов (СИЭ): $СИЭ = C_{Ca} * C_{Cl} * C_{Mg} / C_{PO4}$ и индекс фосфатаз (ИФ): $ИФ = ЩФ / КФ$.

Статистические методы исследования. Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики, применяемым для малых выборок с принятием уровня значимости (p), равным 0,05. Нормальность выборок полученных результатов обрабатывали методами непараметрической статистики. Достоверность различий между двумя несвязанными выборками определяли по W-критерию Вилкоксона для независимых выборок. При статистической обработке результатов исследования был использован интеграторный модуль AtteStat 1.0 для программы MicrosoftExcel.

Результаты исследования. В результате проведенного исследования удалось установить, у пациентов с врожденным псевдоартрозом активность щелочной фосфатазы на всех этапах ортопедического лечения не отличалась от нормальных значений, но имела отличия от дооперационных значений, достоверно повышаясь на 7-10 и 30-е сутки после операции. Активность кислой фосфатазы, начиная с дооперационных значений и заканчивая 10 днем после операции, значительно превышала норму. Это свидетельствовало о том, что в этот период лечения в костной ткани пациентов преобладали процессы резорбции, но к 14-м суткам после операции активность фермента возвращалась к нормальным значениям.

Концентрация кальция и хлоридов на всех этапах ортопедического лечения находилась в пределах нормальных значений. Концентрация фосфатов стремительно росла, но к 30 суткам после операции начинала уменьшаться и приходила в норму. Концентрация магния на 3-5 сутки и 12-14 сутки после операции была достоверно ниже как от нормальных, так и от дооперационных значений. У пациентов с врожденным псевдоартрозом значение индекса фосфатаз на всех этапах ортопедического лечения достоверно отличается от дооперационных значений. Начиная с 12 суток после операции можно заметить, что ИФ стремительно растет. Значений СИЭ было ниже дооперационных, вплоть до 30 суток после операции.

Заключение. Таким образом, исследуя некоторые биохимические показатели сыворотки крови больных с врожденным псевдоартрозом, можно сделать вывод о том, что максимальные изменения выявлены в активности кислой фосфатазы, а также в концентрации фосфатов и магния на всех этапах ортопедического лечения. Концентрации кальция и хлоридов не изменялись.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Crawford, A.H., (1986). Neurofibromatosis in children. Acta Orthop. Scand. Suppl, no. 3, pp. 1-6.
2. Lerat, J., (1980). Le traitement chirurgical des pseudarthrose setc ourbures congenitales de jambe. Chir. Pediatr, no 1, pp. 77-88.
3. Rare Disease Act. Retrieved August 16, 2002, from <https://rarediseases.info.nih.gov>
4. Дмириев М.Л., Баиров Г.А., Терновой К.С., Прокопова Л.В. Костнопластические операции у детей.- Киев: Здоров'я, 1974.-32 с.
5. Международная классификация болезней. МКБ-10. № 196. М 84.1 Несрастание перелома [псевдоартроз]; М 96.0 Псевдоартроз после сращения и артроз. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://mkb-10.com/> - 12.03.2015
6. Проект № 534829-5 в третьем чтении ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в РФ ст. 40. Медицинская помощь гражданам страдающими редкими заболеваниями», 2011.
7. Шапошников Ю.Г. Травматология и ортопедия. Руководство для врачей.- М.: Медицина, 1997. – 625 с.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДИСПЕРГИРОВАННОЙ СУСПЕНЗИИ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ НА
СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ, НЕСТЕРОИДНЫХ
ФИТОЭСТРОГЕНОВ И ДРУГИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В MEDICAGO
SATIVA L., ИНТРОДУЦИРУЕМОЙ В УСЛОВИЯХ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ**

Е.Б. Дайбова¹, О.Н. Змеева¹, Н.Э. Коломиец², А.В. Кравец¹

¹Сибирский Институт Сельского хозяйства и Торфа,
Россия, Томск, Гагарина, 3, 634050

²Сибирский Государственный Медицинский Университет,
Россия, Томск, Московский тракт, 2, 634050

E-mail: edaibova@yandex.ru

**STUDY OF THE EFFECT OF DISPERSED SUSPENSION OF SILICON DIOXIDE ON THE
CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS, NON-STEROIDAL PHYTOESTROGENS AND
OTHER BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN MEDICAGO SATIVA L., INTRODUCED IN
USLOVIAHTABL REGION**

E. B. Daibova¹, O. N. Zmeewa¹, N. E. Kolomiec², A. V. Kravec¹

¹Siberian Institute of Agriculture and Peat, Tomsk, Russia

²Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

E-mail: edaibova@yandex.ru

Abstract. *The influence of suspensions of SiO₂ nanoparticles (size 7nm) at different concentrations on alfalfa (Medicago sativa L.), introduced in the Tomsk region. The results revealed a stimulating effect of dispersing the suspension containing the nanoparticles of silicon on the content of chlorophylls, carotenoids and non-steroidal phytoestrogens in vegetative parts of the plant. It is established that alfalfa is characterized by a pronounced hypersensitivity to the investigated nanoparticles, which determines the specificity of changes in physiological indicators, including the increase in the content of photosynthetic pigments, isoflavonoids and hydroxycinnamic acids in the plant after exposure to a suspension of nanoparticles of SiO₂. A significant increase in the content of biologically active substances, the observed effects of nano-SiO₂, indicates a high sensitivity of alfalfa and about the specific role of nanoparticles in the stimulation of the biosynthesis of biologically active compounds.*

Нанопрепараты биогенных металлов, постепенно внедряющиеся в практику растениеводства, снижают воздействие стрессовых факторов на растения, в т.ч. обеспечивают повышение устойчивости к неблагоприятным погодным условиям и увеличение урожайности (в среднем в 1,5-2 раза) почти всех продовольственных (картофель, зерновые, овощные, плодово-ягодные), технических (хлопок, лен) и других культур [1]. Изучение влияния биогенных элементов в коллоидном состоянии на растительное сырье представляет большой интерес ученых в области биологии, фармакологии, фармакогнозии и биомедицине. Применение нанотехнологий для получения продуктов с направленным биокорректирующим действием является актуальной задачей современных исследователей.

Объектом для изучения влияния суспензии наночастиц SiO_2 в различных концентрациях, явилась люцерна посевная (*Medicago sativa* L.), сорт Сарга, интродуцируемая в условия Томской области. Полевой опыт закладывался по известной методике [2] в естественных агроклиматических условиях, распределение вариантов опыта систематическое, в 3-х повторениях. Отбор растительных образцов проводился в разные фенофазы растения - в фазу бутонизации и созревания. Перед посевом семена контрольного варианта не обрабатывались (без обработки), семена опытных вариантов растения обрабатывали (опрыскивали) суспензией наночастиц (НЧ) SiO_2 , размером 7 нм, в концентрациях 0,1%, 0,05%, 0,01%. В течение полевого опыта растения не опрыскивали суспензией НЧ SiO_2 . Исследования проводили в лабораторных (вегетационные опыты) и полевых условиях на базе стационаров СибНИИСХиТ (ФГБНУ). При проведении исследований использовали НЧ SiO_2 - наночастицы получены методом импульсной лазерной абляции излучением ИК лазера наносекундной длительности импульсов мишени монокристаллического кремния в дистиллированной воде. Средний размер частиц - 7 нм, массовая концентрация частиц в растворе составляла 30 мг/л. Частицы были с дефицитом кислорода относительно идеальной структуры SiO_2 и высокодефектны (СФТИ, ТГУ). Анализ содержания хлорофиллов определяли в спиртовой вытяжке на спектрофотометре UV-1601 фирмы SHIMADZU (Япония) при длинах волн 665 нм, 649 нм и 440,5 нм с последующим расчетом по формулам Вернона. [3, 4] Содержание изофлавоноидов и гидроксикоричных кислот в % в пересчете на абсолютно сухое сырье оценивали по известным методикам. Исследование БАВ проведены в Лабораторно - Аналитическом Центре СибНИИСХиТ и на кафедре фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ. [5,6] Полученные данные обработаны с помощью пакета статистических программ «Statistica for Windows 6,0».

Достоверность результатов оценивали по непараметрическим критериям Mann-Whitney. Исследовательские работы, посвященные изучению влияния обработки растений различными НЧ, так или иначе, связаны с изучением всхожести семян, повышения урожайности, содержания Фотосинтезирующих пигментов (ФП). Так например в работе исследователей [7] показано, что предпосевная обработка семян пшеницы мягкой диспергированной суспензией, содержащей наночастицы железа диаметром 80 ± 5 нм, позволяет повысить устойчивость пшеницы к хлорозу за счет повышения содержания фотосинтетических пигментов, что выявлено и в результате нашего исследования. В результате проведенных нами исследований, выявлено повышение содержания Хл α , β и каротиноидов по всем вариантам опыта относительно контроля. Так по всем вариантам опыта повышение содержания: Хл α - составило 9,65 – 12,82 мг/г, (контроль Хл α – 6,69 мг/г); Хл β – составило 2,75 – 3,79 мг/г, (контроль - Хл β – 1,87 мг/г); каротиноидов – 2,75 – 4,06 мг/г, (контроль – 2,29 мг/г). Однако, увеличение емкости пигментного комплекса не приводило к повышению урожайности по сравнению с контролем.

В исследовательской работе [8] посвященной изучению влияния обработки фасоли, пшеницы и амаранта суспензией, содержащей наночастицы диоксида титана и оксида алюминия, было зафиксировано некоторое снижение содержания ФП у всех исследованных видов, и значительное увеличение содержания амарантина – биологически активного вещества (БАВ) амаранта. В проведенном нами исследовании наблюдалась иная картина, увеличение содержания БАВ отмечено на фоне повышения содержания ФП в вариантах с концентрацией 0,01% и 0,05%, относительно контроля. Стоит

отметить, что динамика повышения содержания в надземной части люцерны БАВ, наблюдалась от фазы бутонизации к фазе созревания, относительно контроля. Данная тенденция отчетливо прослеживалась как при использовании в качестве экстрагента для их извлечения как 40%, так и 70% этилового спирта. Содержание изофлавоноидов и гидроксикоричных кислот увеличивается на 29-62% и 13-40% соответственно, а при использовании 70% этанола – на 28-40% и 8-19% соответственно. Обработка суспензией НЧ SiO₂ в концентрации 0,1% привела к ингибированию биосинтеза БАВ в траве люцерны - изофлавоноидов на 40-48% в фазу бутонизации и на 40-85% в фазу созревания. Аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении гидроксикоричных кислот, при этом содержание в фазу бутонизации снизилось на 29-47% и в фазу созревания растения на 43-85%.

Как показали результаты проведенных исследований, люцерна характеризуется выраженной высокой чувствительностью к исследованным НЧ, что определяет специфику изменений физиологических показателей. Выявлено повышение содержания фотосинтетических пигментов от 44,2% до 103%, изофлавоноидов и гидроксикоричных кислот от 13% до 62% в растении после воздействия суспензией наночастиц SiO₂. Люцерна, является перспективным растением для дальнейшего изучения влияния биогенных элементов и получения продуктов с направленным биокорректирующим действием, что соответствует литературным данным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А.М. Бовсуновский, С.О. Вялый, В.Г. Каплуненко, Н.В. Косинов Нанотехнология как движущая сила аграрной революции // *Зерно*. — 2008. — №11 (31). — С. 80–83.
2. Н.П. Егоров, О.Д. Шафронов, Д.Н. Егоров, Е.В. Сулейманов Разработка и проведение экспериментальной оценки эффективности применения в растениеводстве новых видов удобрений, полученных с использованием нанотехнологий // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. — 2008. — № 6. — С. 94–99.
3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
4. Патент RU № 2539861. Способ повышения содержания фотосинтетических пигментов пшеницы мягкой *Triticum vulgare vill*/ Т.И. Бурцева, С.В. Лебедев, Е.А. Осипова, А.М., Короткова, Л.В. Межуева, О.В. Кван [FindPatent.ru – патентный поиск, 2012-2016]. – Режим доступа: www.findpatent.ru/patent/253/2539861.html.
5. Павлов Г. В. Биологическая активность ультрадисперсных порошков / Г.В. Павлов, Г.Э. Фолманис. — М.: Исследовательский центр проблем качества подготовки специалистов, 1999. — 77 с. 4.
6. Т.П. Астафурова, Ю.Н. Моргалёв, А.П. Зотикова, Г.С. Верхотурова, С.И. Михайлова, А.А. Буренина, Т.А. Зайцева, В.М. Постовалова, Л.К. Цыцарева, Г.В. Боровикова Влияние наночастиц диоксида титана и оксида алюминия на морфофизиологические параметры растений // *Вестник Томского государственного университета*. – Биология. - №1.- 2011. - С.113-121
7. Biogenic Pt uptake and nanoparticle formation in *Medicago sativa* and *Brassica juncea*. J. Nanopart Res., Bali, R.; Siegele, R.; Harris, A. T. doi: 10.1007/s11051-010-9904-7.
8. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // *Биохимические методы в физиологии растений*. - М.: Наука, 1971. - С. 154 - -170.

**ВЫЯВЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНО РЕГУЛЯТОРНЫХ SNPs, СВЯЗАННЫХ С
КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ**

А.О.Дегтярева, А.В.Голованова

Научный руководитель: к.м.н. Е.Ю. Леберфарб

¹Новосибирский государственный медицинский университет,

Россия, г.Новосибирск, Красный пр., 52, 630091

²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН

Россия, г.Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева, 10, 630090

E-mail: arishenciia@mail.ru

**SEARCH FOR POTENTIALLY REGULATORY SNPs ASSOCIATED WITH COLORECTAL
CANCER**

A.O. Degtyareva, A.V. Golovanova

Scientific Supervisor: Ph.D. E.Yu. Leberfarb

¹Novosibirsk State Medical University, Russia, Novosibirsk, Krasnyi av., 52, 630091

²The Federal research center Institute of Cytology and Genetics SB RAS,

Russia, Novosibirsk, Lavrentiev av., 10, 630090

E-mail: arishenciia@mail.ru

Abstract. *A new approach to search for regulatory SNPs has been developed. The approach is based on the analysis of ENCODE data. These data show genome-wide distribution of histone marks and non-histone proteins localization, as well as the determination of the transcriptome. The approach has been used successfully to identify rSNPs associated with colorectal cancer.*

Колоректальный рак (КРР) одно из самых распространенных онкологических заболеваний. Согласно базе данных «Globocan» Международного агентства по изучению рака (IARC) в 2008 г. заболеваемость КРР в мире составила 123,5 тыс., смертность — 609 тыс. случаев и 9,8 % всех случаев рака в мире у лиц обоего пола. В нашей стране наблюдается тенденция к росту этого заболевания (по данными российской федеральной онкологической статистики с 2002 г по 2010 г. прирост заболеваемости составил 24.96 %), его запущенности и, как следствие, смертности. Основная проблема при терапии этого заболевания – обращение пациентов на стадиях клинических проявлений, когда пятилетняя выживаемость после оперативного вмешательства составляет 10%, в то время как своевременная постановка диагноза увеличивает этот показатель до 80 %.

Эффективность лечения, безусловно, зависит от своевременной и качественной диагностики данной патологии. Существует большое количество факторов риска заболевания КРР – диета, экология, а также в 15-30% случаев - генетическая предрасположенность. Риск развития КРР увеличивается в 2-3 раза для субъектов, имеющих одного заболевшего КРР родственника первой линии родства, если на момент постановки диагноза возраст родственника превышал 50 лет. Для субъектов с двумя и более родственниками первой линии родства, заболевшими КРР в любом возрасте, или с одним родственником

первой линии родства, заболевшим в возрасте до 50 лет, риск развития КРР увеличивается в 4-6 раз [1-3]. Наличие молекулярных маркеров генетической предрасположенности можно положить в основу диагностики, это позволит выделить группу риска среди населения для диспансеризации. В этой связи нельзя переоценить значение работ по поиску молекулярных маркеров предрасположенности к КРР.

Маркерами предрасположенности различных заболеваний служат однонуклеотидные полиморфизмы (Single nucleotide polymorphisms, SNPs), которые возникают в результате точечных мутаций, микроделений, микроинсерций. В соответствии с прогрессом в технологии секвенирования и генотипирования число известных SNPs в геноме человека из года в год увеличивается и в настоящее время составляет более 150 млн. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/feed/rss.cgi>). Выделяют три класса SNPs: cSNPs в кодирующих районах генов (синонимические – с заменой аминокислоты на другую, несинонимические - без замены), которые влияют на посттранскрипционные и посттрансляционные модификации; rSNPs в регуляторных областях генов, влияющие на связывание транскрипционных факторов и как следствие на экспрессию белков; sSNPs в интронах, влияющие на сплайсинг мРНК. Несмотря на очевидную значимость rSNPs, эта группа является наименее изученной.

В лаборатории регуляции и экспрессии генов (ИЦиГ) проводится работа, по выявлению и функциональному анализу регуляторных SNPs, связанных с развитием рака толстого кишечника. Данное исследование включает биоинформатический метод поиска потенциально регуляторных SNPs и экспериментальное исследование образцов ткани толстого кишечника больных колоректальным раком с целью подтверждения и выявления новых функционально значимых rSNPs. Суть предложенного подхода заключается в анализе и сопоставлении независимых данных полногеномных исследований.

К настоящему времени накоплено большое число данных о последовательностях ДНК регуляторных районов геномов, полученных с помощью ChIP-seq экспериментов по определению районов связывания различных факторов транскрипции и модификаций гистонов в клинических образцах и клеточных линиях. Развитие методов NGS дает возможность прицельного поиска SNP в регуляторных районах генома.

Для поиска SNP, расположенных в потенциально регуляторных районах, были взяты результаты 600 экспериментов ChIP-seq, проведенных на 26 образцах опухолей толстого кишечника и клеточных линий колоректального рака. Эти результаты получены с использованием антител к различным транскрипционным факторам и модификациям гистонов. Были выбраны следующие критерии отбора SNPs. Из всего массива SNPs были отобраны гетерозиготные SNPs, которые встречаются минимум в 2 опухолевых линиях. Покрываемость каждого аллеля SNPs при секвенировании не менее 20. Представленность каждого аллеля в преципитатах должна отличаться минимум в 2 раза. Для выбора SNP, связанных с развитием рака толстого кишечника, были сопоставлены частоты встречаемости выявленных SNPs в образцах колоректального рака с частотой встречаемости в общей популяции (по данным встречаемости минорных аллелей dbSNP NCBI) или находящиеся в одной группе сцепления (± 10000 п.н.) с SNPs, ассоциированными с онкологическими заболеваниями по GWAS и ClinVar. В итоге было получено 101 rSNP, влияющий на экспрессию 41 генов, связанных с развитием КРР. Из них 36 SNPs были проверены методом секвенирования по Сенгеру на линии HCT116. Для этого производился подбор праймеров к районам, содержащим данные SNPs, с помощью программы Primer-BLAST, проверка праймеров с использованием программы OligoAnalyzer. Для каждой пары праймеров были подобраны условия

проведения ПЦР. В результате мы подтвердили гетерозиготность 23 SNPs, что свидетельствует о высокой эффективности предлагаемого нами подхода.

Представляет большой интерес анализ функций выявленных генов, содержащих SNPs. Первичное описание найденных генов проводили с использованием аннотаций GO, основанных на экспериментальных данных (<http://geneontology.org/>). Для 12 генов (*ZFP276*, *ACADVL*, *PAFAH1B2*, *MC1R*, *ZNF652*, *CDK10*, *TUBB3*, *P4HB*, *RRAGD*, *FZD6*, *BAIAP2L1*, *BUB3*) показана их роль в канцерогенезе [4-8]. Еще для 11 генов, содержащих выявленные нами rSNPs, связь с канцерогенезом неизвестна. Однако, среди них гены, продукты которых участвуют в различных процессах. Ген *COMMD5* - принимает участие в клеточной пролиферации; *RNF114* – в дифференцировке; *TARDBP*, *UBE2Z*, *SCO2* – в апоптозе; *ENDOV* – в репарации ДНК. Это дает основания предполагать их возможное участие в развитии злокачественных опухолей, включая колоректальный рак.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-05780 А

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taylor, D. P., Burt, R. W., Williams, M. S., Haug, P. J., & Cannon-Albright, L. A. (2010). Population-based family history-specific risks for colorectal cancer: a constellation approach [Electronic version]. *Journal of Gastroenterology*, no. 138, pp. 877–885.
2. Balmaña J., Castells A. & Cervantes A. Минимальные клинические рекомендации европейского общества медицинской онкологии (ESMO) – М: Издательская группа РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 2010. – 124с.
3. Kaz, A. M., & Brentnall, T. A. (2006). Genetic testing for colon cancer [Electronic version]. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, no. 3, pp. 670–679.
4. Wong, J. C. Y., Gokgoz, N., Alon, N., Andrulis, I. L., & Buchwald, M. (2003). Cloning and mutation analysis of *ZFP276* as a candidate tumor suppressor in breast cancer [Electronic version]. *Journal of Human Genetics*, no. 48, pp. 668–671.
5. Pan, Z., Chen, S., Pan, X. et al. (2010). Differential gene expression identified in Uigur women cervical squamous cell carcinoma by suppression subtractive hybridization [Electronic version]. *Journal of Neoplasma*, no. 57, pp. 123–128.
6. Yu, J.-H., Zhong, X.-Y., Zhang, W.-G. et al. (2012). *CDK10* functions as a tumor suppressor gene and regulates survivability of biliary tract cancer cells [Electronic version]. *Journal of Oncology Reports*, no. 27, pp. 1266–1276.
7. Sun, S., Lee, D., Ho, A. S. W. et al. (2013). Inhibition of prolyl 4-hydroxylase, beta polypeptide (*P4HB*) attenuates temozolomide resistance in malignant glioma via the endoplasmic reticulum stress response (ERSR) pathways [Electronic version]. *Journal of Neuro-Oncology*, no. 15, pp. 562–577.
8. Kanojia, D., Morshed, R. A., Zhang, L. et al. (2015). β III-Tubulin Regulates Breast Cancer Metastases to the Brain [Electronic version]. *Journal of Molecular Cancer Therapeutics*, no. 14, pp. 1152–1161.

**ИЗУЧЕНИЕ БИОПЛЕНОК И ПОЛИ-3-ГИДРОКСОБУТИРАТА У БАКТЕРИЙ
AZOSPIRILLUM BRASILENSE МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИИ**

Ю.А. Дятлова, А.В. Тугарова, А.А. Камнев

Научный руководитель: профессор, д.х.н. А.А. Камнев

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,

Россия, г. Саратов, просп. Энтузиастов, 13, 410049

E-mail: jdyatlowa2013@yandex.ru

**STUDY OF BIOFILMS AND POLY-3-HYDROXYBUTYRATE IN THE BACTERIA
AZOSPIRILLUM BRASILENSE BY FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY**

Yu.A. Dyatlova, A.V. Tugarova, A.A. Kamnev

Scientific Supervisor: Prof., D.Sc. A.A. Kamnev

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences,

Russia, Saratov, Prosp. Entuziastov, 13, 410049

E-mail: jdyatlowa2013@yandex.ru

Abstract. *For the bacteria Azospirillum brasilense, their biofilms (as the main form of their existence in nature) and poly-3-hydroxybutyrate (biopolyester produced and accumulated in cells under stress conditions, a biodegradable alternative to synthetic plastics) were studied by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy.*

Инфракрасная (ИК) спектроскопия – это метод, основанный на регистрации колебательных переходов функциональных групп в (макро)молекулах при непосредственном поглощении веществом инфракрасного излучения. В настоящее время данный метод широко используется в исследованиях, в том числе микробиологических, что обусловлено доступностью и повышенной чувствительностью ИК-фурье-спектрометров, а также быстротой и простотой регистрации спектров.

Бактерии рода *Azospirillum* – распространенные грам-отрицательные ризобактерии, стимулирующие рост и развитие растений [1, 2]. Они способны образовывать ассоциации с высшими растениями, фиксировать атмосферный азот. В естественных условиях бактерии рода *Azospirillum* существуют преимущественно в виде биопленок, а также подвергаются различным стрессовым условиям. Биопленки – это пространственно и метаболически структурированные сообщества микроорганизмов, заключенные во внеклеточный биополимерный матрикс на границе раздела фаз. На сегодняшний день биопленки активно изучаются; актуальны сведения об их структуре, составе и формировании. Одним из основных механизмов защиты при стрессовых условиях у многих бактерий, в том числе и у азоспирилл, является способность синтезировать сложные полиэферы – полигидроксоалканоаты (ПГА). Надо отметить, что бактерии вида *A. brasilense* способны синтезировать только один вид ПГА – поли-3-гидроксобутират (ПГБ; до 80% от сухой биомассы [3]), что облегчает анализ ИК-спектров. Ранее с использованием ИК-фурье-спектроскопии в режиме диффузного отражения (DRIFT mode) были охарактеризованы некоторые особенности и различия накопления ПГБ в условиях различных стрессов (трофический стресс, тяжелые металлы) клетками различных штаммов *A. brasilense in vivo* [3, 4]. С одной стороны, ПГА представляют

собой запасные вещества (по углероду и энергии), накапливающиеся в клетках и используемые бактериями при исчерпании питательных веществ, повышая их выживаемость. С другой стороны, они чрезвычайно интересны как экологически чистая альтернатива традиционным пластикам.

Целью данного исследования явилось изучение биопленок и ПГБ, синтезируемого в стрессовых условиях (трофический стресс), у бактерий вида *A. brasilense* методом ИК-фурье-спектроскопии (FTIR spectroscopy) в режиме пропускания (transmission mode). Объектами исследования явились высушенные препараты планктонных культур и биопленок штамма *A. brasilense* Sp245 и его мутантов – SK039 и Sp245.1610. Данные мутанты дефектны по подвижности и не способны к плаванию, мигрируют с образованием микроколоний. Биопленки выращивались на покровных стеклах, на среде Luria–Bertani (LB) в течение 6 суток при 28°C. В качестве продуцента ПГБ были использованы бактерии штамма *A. brasilense* Sp245. Для синтеза ПГБ были выбраны условия, индуцирующие синтез полиэфира в значительных количествах: 9 сут культивирования, трофический стресс (дефицит азота). Накопленный клетками ПГБ экстрагировали хлороформом; для удаления остатков клеточных липидов полимер пересаждали из хлороформного раствора охлажденным метанолом. Образцы ПГБ представляли собой пленки с разной толщиной, которые получали с использованием различной концентрации полимера в одинаковом объеме хлороформа.

Методом ИК-фурье-спектроскопии (спектрометр Nicolet 6700, США) показано, что имеются значительные отличия спектра биопленки от спектра планктонной культуры. Было установлено, что наблюдается смещение полосы амид-I с 1691 см⁻¹ до 1650 см⁻¹, что говорит о перераспределении компонентов вторичной структуры белков от преимущественной β-структуры в бактериях планктонной культуры к α-спирали у бактерий в биопленке. Также происходит общее снижение интенсивности и изменение формы уширенного пика в области от 3600 см⁻¹ до 2800 см⁻¹ (валентные колебания ОН-групп с водородными связями), что коррелирует со снижением интенсивности пиков в области 3000–2800 см⁻¹, соответствующих функциональным группам СН₃ и СН₂. Таким образом, уменьшается интенсивность полос, соответствующих углеводам, что подтверждается как снижением интенсивности полосы в области 3600–800 см⁻¹, так и изменением полосы, представляющей собой в случае спектра планктонной культуры плоское плато с пиком около 1107 см⁻¹. На спектре биопленки в этой области появляется два пика: 1080 см⁻¹ и 1116 см⁻¹, что, вероятно, происходит также за счет изменения взаимодействий между молекулами углеводов.

Для мутантов *A. brasilense* Sp245.1610 и SK039 наблюдались сходные с родительским штаммом изменения в спектрах биопленок, за исключением резкого усиления интенсивности пика при 1418 см⁻¹ на спектре биопленки штамма SK039.

Вторая часть работы была связана с мониторингом в течение полугода образцов пленок ПГБ с различной толщиной для выявления возможных изменений, происходящих в структуре данного биополимера при хранении, методом ИК-фурье-спектроскопии.

Известно, что степень упорядоченности ПГБ характеризуется несколькими полосами поглощения, основной из которых можно назвать полосу валентных колебаний карбонильной группы сложноэфирного фрагмента макромолекулы биополимера (1720–1750 см⁻¹). Методом ИК-фурье-спектроскопии в режиме пропускания было показано, что более тонкие пленки имеют упорядоченную структуру ПГБ и практически идентичны спектру коммерческого ПГБ. Пик колебаний карбонильной

группы в них соответствовал упорядоченной структуре (ок. 1726 см^{-1}). Спектры образцов более толстых пленок имели два максимума карбонильной группы – при 1741 и 1725 см^{-1} , т.е. аморфной и упорядоченной структур, соответственно. На спектрах как толстых, так и тонких пленок наблюдались полосы поглощения, соответствующие связанной воде, – при 3437 см^{-1} (валентные колебания ОН-групп) и 1690 см^{-1} (деформационные колебания Н–О–Н). Для более тонких пленок относительная интенсивность данных полос была ниже.

Присутствие аморфной фазы в пленках ПГБ с большей толщиной, вероятно, можно объяснить нарушением “структурирующих” водородных связей типа С–Н \cdots О между спиральями биополимера [5, 6]. Данные нарушения возникают в результате присутствия воды в объеме образца, молекулы которой, очевидно, связаны Н-связями со сложнэфирными фрагментами биополимера. Дальнейший мониторинг изучаемых образцов пленок в течение шести месяцев с использованием ИК-фурье-спектроскопии не показал изменений в их структуре.

На данный момент ведутся эксперименты по изучению особенностей накопления ПГБ клетками *A. brasilense* для штаммов Sp7 и Cd при различных условиях трофического стресса и с разным сроком культивирования.

Таким образом, методом ИК-фурье-спектроскопии (1) показано изменение в макрокомпонентах биопленок штаммов *A. brasilense* Sp245, Sp245.1610 и SK039 по сравнению с планктонными культурами этих штаммов; (2) выявлена зависимость между толщиной пленок и степенью упорядоченности структуры ПГБ: биополимер в виде тонких пленок обладал более упорядоченной структурой, при этом не выявлено изменений в структуре ПГБ на протяжении длительного срока хранения (до полугода).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bashan Y., Holguin G. Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996) // Can. J. Microbiol. – 1997. – V. 43, No. 2. – P. 103–121.
2. Pereg L., de-Bashan L.E., Bashan Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants // Plant Soil. – 2016. – V. 399, No. 1. – P. 389–414.
3. Kamnev A.A., Tugarova A.V., Tarantilis P.A., Gardiner P.H.E., Polissiou M.G. Comparing poly-3-hydroxybutyrate accumulation in *Azospirillum brasilense* strains Sp7 and Sp245: The effects of copper(II) // Appl. Soil Ecol. – 2012. – V. 61. – P. 213–216.
4. Камнев А.А., Тугарова А.В., Антонюк Л.П. Эндوفитный и эпифитный штаммы *Azospirillum brasilense* по-разному отвечают на стресс, вызываемый тяжелыми металлами // Микробиология. – 2007. – Т. 76. – № 6. – С. 908–911.
5. Sato H., Dybal J., Murakami R., Noda I., Ozaki Y. Infrared and Raman spectroscopy and quantum chemistry calculation studies of C–H \cdots O hydrogen bondings and thermal behavior of biodegradable polyhydroxyalkanoate // J. Mol. Struct. – 2005. – V. 744–747. – P. 35–46.
6. Sato H., Murakami R., Mori K., Ando Y., Takahashi I., Noda I., Ozaki Y. Specific crystal structure of poly(3-hydroxybutyrate) thin films studied by infrared reflection-absorption spectroscopy // Vibr. Spectrosc. – 2009. – V. 51, No. 1. – P. 132–135.

**ВЫЯВЛЕНИЕ КОМЕТИЛИРОВАННЫХ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ
С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ**

А.А. Зарубин, А.В. Марков

Научный руководитель: к.м.н. М.С. Назаренко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский
институт медицинской генетики»,

Россия, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10, 634050

E-mail: a.a.zarubin@gmail.com

**IDENTIFICATION OF CO-METHYLATED GENES IN PATIENTS WITH CORONARY
ARTERY ATHEROSCLEROSIS**

A.A. Zarubin, A.V. Markov

Scientific Supervisor: M.S. Nazarenko

Research Institute of Medical Genetics, Russia, Tomsk, Nab. Ushaiki, 10, 634050

E-mail: a.a.zarubin@gmail.com

***Abstract.** Epigenetic alterations are involved in development of atherosclerosis in human. Recent genome-wide scans were concentrated on DNA methylation abnormalities in human arterial tissues only. In order to collate DNA methylation patterns between affected coronary arteries and peripheral blood leukocytes we used a modern network approach and found 38 modules of co-methylated genes. Many clusters were enriched with genes related with different biological processes that can be involved in atherosclerosis.*

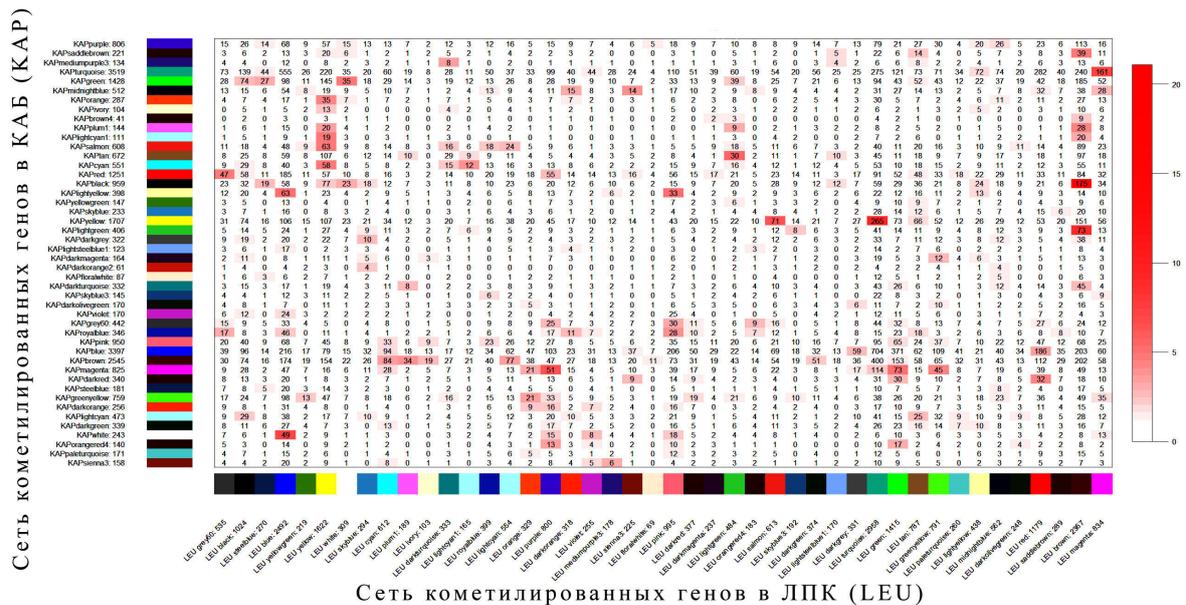
Согласно данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире. Атеросклеротическое поражение сосудов – основа большинства ССЗ [1]. Известно, что патогенез атеросклероза представляет собой многофакторный и динамичный процесс, значительный вклад в развитие которого вносят эпигенетические изменения в геноме различных клеток [2]. Предыдущие исследователи использовали лейкоциты периферической крови (ЛПК), как легкодоступный материал, но полученные ими результаты были противоречивыми [3, 4]. Недавние работы по крупномасштабному скринингу эпигенома были сосредоточены на метилировании ДНК только в тканях кровеносных сосудов [5-7], что, несмотря на важность и информативность таких исследований, довольно далеко от нужд рутинной диагностики.

Цель настоящего исследования заключалась в идентификации кометилированных (совместно метилированных) генов в лейкоцитах периферической крови и атеросклеротических бляшках коронарных артерий (КАБ) с помощью современного сетевого подхода.

Для исследования были использованы образцы ДНК, полученные из двух регионов артериального русла (КАБ и ВГА), а также ЛПК пациентов (n=6) с атеросклерозом коронарных артерий. Анализ метилирования проведен с помощью микрочипов Infinium Human Methylation 27K BeadChip (Illumina, США). Полученные данные были обработаны в статистической среде R. С помощью пакета WGCNA [8] для каждого типа тканей была построена сеть кометилированных генов и рассчитаны матрицы

корреляций между модулями в разных сетях. Для выявления одинаковых групп кометилованных генов между КАБ и ЛПК, более специфично связанных с патологическим процессом, были убраны из рассмотрения модули, которые значимо коррелировали ($p < 0,01$) и пересекались с сетью ВГА. Полученные списки генов были проанализированы на сверхпредставленность в базах данных GeneOntology, KEGG и Reactome с помощью пакета clusterProfiler [9]. Полученные уровни статистической значимости p были скорректированы на множественность сравнений по методу Бенджамини-Хохберга [10].

В результате проведенного исследования 38 генных модулей (от 8 до 265 генов в каждом) показали совместное метилирование и корреляция между КАБ и ЛПК ($p < 0,01$; рис. 1).



Сеть кометилованных генов в ЛПК (LEU)

Рис. 1. Таблица пересекающихся групп кометилованных генов КАБ и ЛПК

Самый крупный из них включал 265 генов, которые были представлены в 333 категориях биологических процессов. Другие модули содержали большое количество генов, связанных с различными биологическими процессами и событиями, в том числе теми, которые участвуют в формировании атеросклеротической бляшки (табл. 1). Например, регуляция созревания клеток миелоидного ряда как основных факторов воспаления, метаболизм жирных кислот и липидов как один из важнейших патогенетических факторов развития заболевания.

Таблица 1

Группы генов, значимо представленные в категориях биологических баз данных и связанные с

атеросклерозом

| Описание категории | p^* | Гены |
|--|----------|--|
| Регуляция дифференцировки клеток миелоидного ряда (GO:0045637) | 0,004234 | MAPK14, FOXO3, GNAS, SENP1, CDC73, GPR68 |
| Окисление жирных кислот | 0,03825 | SLC27A2, CPT1C, HACL1, PEX13, |

| | | |
|--|----------|------------------------------------|
| (GO:0019395) | | <i>TWIST1</i> |
| Регуляция обменных процессов РНК (GO:0051253) | 0,040937 | <i>POU5F1, RBI, SRF, WTI, ZNF8</i> |
| Дифференцировка клеток эндотелия (GO:0045446) | 0,018162 | <i>MESPI, SOX17, CLDN5</i> |
| Геномный импринтинг (GO:0071514) | 0,020887 | <i>GNAS, KCNQ1, NDN</i> |
| Клеточный ответ на катехоламины (GO:0071870) | 0,020887 | <i>GNAS, KCNQ1, RYR2</i> |
| Биосинтез глутамата (GO:0006537) | 0,024031 | <i>GLUD1, GLUD2</i> |
| Кальций - сигнальный путь (hsa04020) | 0,035482 | <i>GNAS, CHRM2, RYR2, GRM1</i> |

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними: политика, стратегия и меры борьбы [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44701/6/9789244564370_rus.pdf?ua=1. – ВОЗ, 2013. – 163 с.
2. Voelter-Mahlknecht, S. (2016). Epigenetic associations in relation to cardiovascular prevention and therapeutics. *Clin. Epigenetics*, v. 8, pp. 4.
3. Castro, R., Rivera, I., Struys, E. A. (2003). Increased homocysteine and S-adenosylhomocysteine concentrations and DNA hypomethylation in vascular disease. *Clin. Chem*, no. 49, pp. 1292-1296.
4. Sharma, P., Kumar, J., Garg, G. et al. (2008). Detection of altered global DNA methylation in coronary artery disease patients. *DNA Cell Biol.* no. 27, pp. 357-365.
5. Назаренко М.С., Марков А.В., Лебедев И.Н. и др. Профиль метилирования ДНК в тканях сосудистого русла при атеросклерозе // Молекулярная биология. – 2013. – Т. 47. – № 3. – С. 398-404.
6. Zaina, S. Heyn, H., Carmona, F. J. et al. (2014). DNA methylation map of human atherosclerosis. *Circ. Cardiovasc. Genet*, v. 7, no. 5, pp. 692-700.
7. Aavik, E., Lumivuori, H., Lepp, O. et al. (2015). Global DNA methylation analysis of human atherosclerotic plaques reveals extensive genomic hypomethylation and reactivation at imprinted locus 14q32 involving induction of a miRNA cluster. *Eur. Heart. J.*, v. 36, no. 16, pp. 993-1000.
8. Langfelder, P., Horvath, S. (2008). WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC. Bioinformatics*, v. 9, pp. 559.
9. Yu, G. Wang, L. G., Han, Y. et al. (2012). clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS*, v. 16, no. 5, pp. 284-287.
10. Benjamini Y., Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. Roy. Statist. Soc. Ser. B*, v. 57, no. 1, pp. 289-300.

**ИНТЕГРАТИВНАЯ И ЭПИСОМАЛЬНАЯ ФОРМЫ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА 16
ГЕНОТИПА В ИЗМЕНЕННОМ ЦЕРВИКАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ**

М.К. Ибрагимова^{1,2}

Научный руководитель: д.б.н. Н.В. Литвяков

¹Томский НИИ онкологии, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050

²НИ Томский государственный университет, Россия, г. Томск, пр. Ленина 36, 634050

E-mail: imk1805@yandex.ru

**INTEGRATIVE AND EPISOMAL FORMS 16 GENOTYPES OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS FOR
CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA AND CERVICAL CANCER**

M.K. Ibragimova^{1,2}

Scientific Supervisor: Doctor of Sc., N.V. Litviakov

¹Tomsk Cancer Research Institute, Russia, Tomsk, Kooperativny str. 5, 634050

²Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: imk1805@yandex.ru

Abstract. *The study involved 148 patients with precancer (cervical intraepithelial neoplasia grade 1 (LSIL) and cervical intraepithelial neoplasia grade II-III (HSIL)) and the stage I-IV cervical cancer patients which were infected with human papillomavirus (HPV), and women with no pathological changes in cervical mucous. The comprehensive survey included colposcopy, cytological and histological analysis, detection and genotyping of high-risk human papillomavirus, viral load and physical status of HPV16 DNA was evaluated in cases of mono-infection. The association between degree severity of disease and a high viral load was found. The frequency of integrated DNA was strongly increased in patients with a high viral load. Whereas the frequency of episomal forms was either reduced or not detectable in the same patients to compared with patients with a low viral load. We presume that a high HPV16 viral load may cause increasing the frequency of integration virus DNA into the cellular/host genome.*

Актуальность. В инфицированной клетке вирус папилломы человека (ВПЧ) может существовать в эписомальной форме (вне хромосом клетки) - считается доброкачественной, интегрированной (встроенной в геном клетки) - расценивается как злокачественная форма персистенции вируса и смешанной форме (наличие свободного и встроенного в ДНК клетки-хозяина вируса) [1]. Прогрессия от клеточных изменений, связанных с ВПЧ-инфекцией, до развития рака шейки матки (РШМ) занимает около 10-40 лет, но редко может развиваться и за 1-2 года, что, несомненно, доказывает важность своевременного мониторинга больных папилломавирусной инфекцией и проведения вирусологических исследований для выявления групп риска развития онкологической патологии [2].

Целью настоящей работы явилось изучение частоты интегрированных форм ВПЧ 16 при предопухолевых и злокачественных патологиях шейки матки.

Материал и методы. Вирусологическое исследование было проведено 148 женщинам Томской области в возрасте от 20 до 76 лет, проходивших осмотр (условно здоровые женщины) и/или

получавших лечение в Томском НИИ онкологии (с различными патологиями шейки матки). Все пациентки являлись носителями моноинфекции ВПЧ 16 генотипа. Материалом для исследования послужили соскобы эпителия цервикального канала и шейки матки. В зависимости от диагноза все пациентки были разделены на группы: 1 группа - условно здоровые женщины ($n=30$, средний возраст $30,1\pm 1,6$), 2 группа - женщины с LSIL(CINI) и HSIL (CINII-III) эпителия шейки матки ($n=53$, средний возраст $38,5\pm 0,8$), 3 группа – женщины с РШМ I-IV ($n=65$, средний возраст $44,3\pm 1,2$). Всем пациентам было проведено определение физического статуса ДНК ВПЧ 16 типа. Выявление и оценка физического статуса генотипа ДНК ВПЧ 16 в ДНК клетки-хозяина проводилось с использованием набора реагентов фирмы «Amplisens®» (Москва, Россия). Значение вирусной нагрузки (ВН) рассчитывалось в геномных эквивалентах ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток. Согласно инструкции к наборам порог клинически значимой ВН принимался равным 3 lg ДНК ВПЧ / 10^5 клеток в соскобе. Выявление области Е6 при отсутствии области Е1/Е2 интерпретировалось как интеграция вируса в ДНК человека, выявление области Е6 при наличии области Е1/Е2 - как смешанная форма вируса, отсутствие области Е6 при наличии области Е1/Е2 - как эписомальная форма вируса. Для оценки статистической значимости различий в распределении частот качественных признаков между группами использовали критерий Фишера.

Результаты и обсуждение. При сравнении частоты встречаемости клинически значимой ВН для выбранных ВПЧ16+ пациенток, было показано, что частота встречаемости высокой вирусной нагрузки у пациенток групп CIN II-III и всех больных РШМ статистически значимо превышает частоту встречаемости высокой вирусной нагрузки для группы здоровых женщин (p от $1,98*10^{-7}$ до 0,004). Также было показано, что частота встречаемости высокой ВН у пациенток групп РШМ I-II, РШМ III-IV и общей группы с диагнозом РШМ (РШМ I-IV) статистически значимо превышает частоту встречаемости клинически значимой вирусной нагрузки для группы пациенток с CIN I (p от 0,001 до 0,01).

Следующим этапом работы была оценка частоты интеграции ВПЧ 16 генотипа в ДНК на изучаемой выборке. Частота интегрированных форм составила: в группах с патологией шейки матки (CINI-III и РШМИ-IV) была в два раз выше, чем у условно здоровых (рис.1). Частота смешанных форм в группе РШМИ-IV была несколько выше, чем у здоровых и пациенток с дисплазией. Частота эписомальных форм ВПЧ снижалась по мере утяжеления диагноза и была равна 0 в группе РШМИ-IV. Статистически значимые различия по частоте встречаемости различных форм ВПЧ 16 в группах наблюдения на уровне $p<0,002$ выявлены для эписомальной формы ВПЧ 16 типа в группе больных РШМ (по сравнению с группой здоровых лиц, $OR(95CI\%) = 1,2 (1,08- 1,48)$), а также для группы больных РШМ по сравнению с группой больных дисплазией эпителия шейки матки ($p=0,02$, $OR(95CI\%) = 1,11 (1,01- 1,22)$). Для смешанной и интегрированной формы ВПЧ статистически значимых различий выявлено не было (рис. 1). Сравнение распределения частот всех трех форм (эписомальной, смешанной и интегрированной) между больными РШМ и CIN I-III в таблице 2x3 (тест хи-квадрат) показало, что распределение частот форм вируса статистически значимо различается на уровне значимости 95% ($p=0,04$).

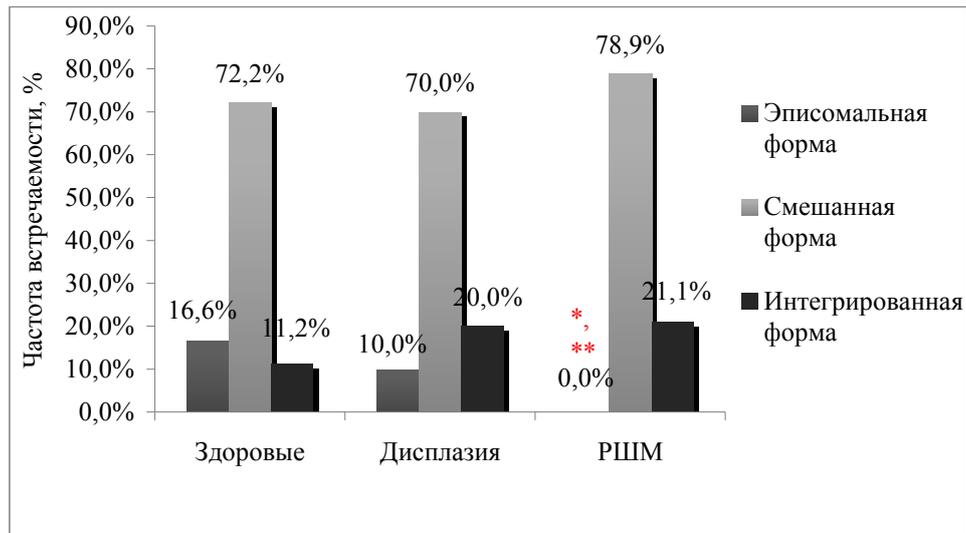


Рис.1 Частота встречаемости различных форм ВПЧ 16 в группах наблюдения

Примечание.*- различия статистически значимы по сравнению с группой здоровых лиц, $p < 0,05$; ** - различия статистически значимы по сравнению с группой больных дисплазией эпителия шейки матки, $p < 0,05$

Заключение. Несмотря на то, что риск заражения женщин ВПЧ в течение жизни достаточно высок, наличие эписомальной формы ВПЧ не является прогностически неблагоприятным фактором, т.к. у большей части пациенток происходит его элиминация [3]. Предполагается, что интегрированная форма вируса дольше сохраняется, благодаря чему обнаруживается в эпителиальных дисплазиях высокой степени и РШМ, вызывает пролиферативные процессы в клетках, геномную нестабильность и формирование мутаций [4, 5]. Таким образом, интеграция ДНК ВПЧ в ДНК клетки-хозяина является ключевым событием в трансформации эпителиальных клеток.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-34-20568 и программой повышения конкурентоспособности Национального исследовательского Томского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jiang, M.R., et al. (2009). Sequence variation of human papillomavirus type 16 and measurement of viral integration by quantitative PCR. *Journal of clinical microbiology*, V. 3., pp. 521-526.
2. Bruni, L., Diaz, M., et al. (2010). Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *Journal of Infectious Diseases*, V. 202 (12), pp. 1789-1799.
3. Назарова Н.М., Прилепская В.Н., Суламанидзе Л.А. и др. Папилломавирусная инфекция: распространенность, диагностика и лечение (обзор) // *Лечащий врач*. – 2013. – № 11. – С. 15-29.
4. Vink, M.A., et al. (2013). Clinical progression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia: estimating the time to preclinical cervical cancer from doubly censored national registry data. *American journal of epidemiology*, V. 77., pp. 122-131.
5. Hu, Z., et al. (2015) Genome-wide profiling of HPV integration in cervical cancer identifies clustered genomic and a potential microhomology-mediated integration mechanism. *Nature genetics*, V. 47., pp. 158-163.

**АВТОМАТИЧЕСКОЕ ИЗМЕРЕНИЕ ТОЛЩИНЫ ВОРОТНИКОВОГО ПРОСТРАНСТВА
ПЛОДА ПО СНИМКАМ УЗИ**

Н.В. Калашникова, В.А. Конов, А.Ю. Блинов

Научный руководитель: к.т.н. Г.А. Поллак

Южно-Уральский Государственный университет,

Россия, г. Челябинск, пр. Ленина, 76, 454080

E-mail: kalashnikova-nv@rambler.ru

**AUTOMATIC MEASUREMENT OF NUCHAL TRANSLUCENCY OF THE FETUS USING
ULTRASOUND PICTURES**

N.V. Kalashnikova, V.A. Konov, A.Yu. Blinov

Scientific Supervisor: Dr. G.A. Pollak

South Ural State University, Russia, Chelyabinsk, Lenin str., 76, 454080

E-mail: kalashnikova-nv@rambler.ru

***Abstract.** Automatic measurement of nuchal translucency of the fetus using ultrasound pictures. The article discusses the results of practical application of the system of recognition of borders and determining the size of fuzzy graphic images to measure the nuchal translucency of the fetus. Results of measurements made by the system and physician-expert are compared.*

Задача распознавания образов и измерения их размеров особенно важна в медицине при обработке изображений, полученных при различных исследованиях. По размеру органов врач может оценить динамику состояния пациента. Авторами была разработана система распознавания границ и определения размеров нечетких графических образов, а также исследована возможность практического применения системы к измерению толщины воротникового пространства плода.

Толщина воротникового пространства (ТВП) – скопление жидкости на задней поверхности шеи ребенка. Увеличение ТВП может свидетельствовать о наличии синдрома Дауна и других врожденных пороках развития. Чем выше показатель толщины воротникового пространства, тем выше риск развития синдрома Дауна и других хромосомных нарушений [1].

Согласно рекомендациям FMF (Fetal Medicine Foundation – Международный институт медицины плода) по проведению корректного измерения толщины воротникового пространства, всегда измеряется наибольшая величина воротникового пространства, причем линия, соединяющая верхнюю и нижнюю границы контура должна располагаться перпендикулярно [2], как на рисунке 1.

Таким образом, необходимо найти наибольшее расстояние от верхней границы контура воротникового пространства до нижней, при этом линия, соответствующая расстоянию, должна быть перпендикулярна границам контура. Алгоритм, предложенный в системе, разработанной авторами для выделения контуров объектов и измерения ТВП, соответствует рекомендациям FMF и включает в себя следующие шаги: установка отношения между единицами измерения, определение области для измерения, выделение ближайшего внешнего контура, разделение всех точек контура на точки двух границ, поиск

расстояния от одной границы контура до другой методом перебора, выбор наибольшего из наименьших расстояний. Результат практического применения системы к измерению ТВП представлен на рисунке 2.

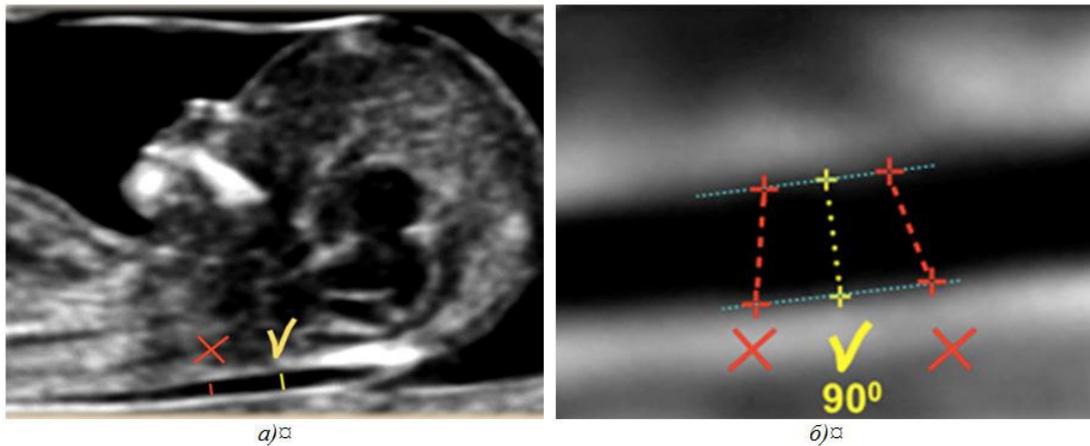


Рис. 1. Рекомендации по проведению корректного измерения ТВП плода:

а) наибольшая величина воротникового пространства; б) перпендикулярность линии

Контур воротникового пространства был выделен с помощью метода порогового преобразования. Данный метод вполне гибкий, позволяет изменять значение порога, что дает возможность сравнивать результаты преобразования при разном уровне порогового значения [3].

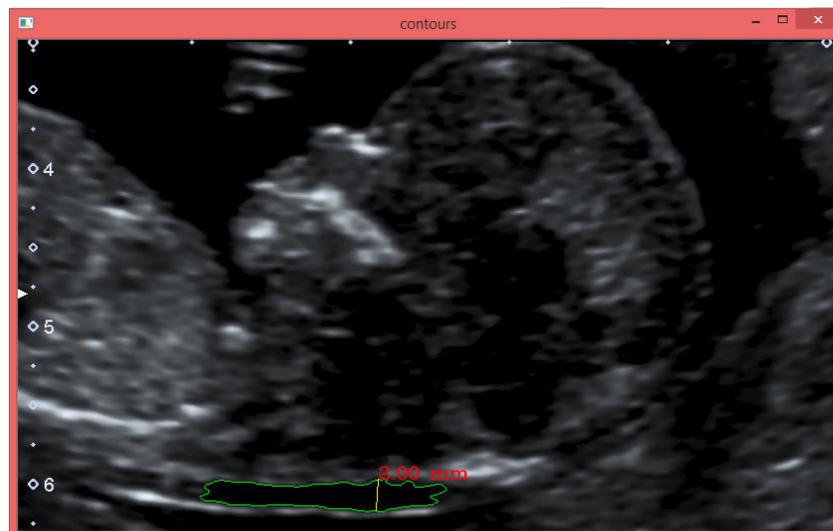


Рис. 2. Результат практического применения системы распознавания границ и определения размеров нечетких графических образов к измерению толщины воротникового пространства плода.

Как видно на рис. 2, толщина воротникового пространства составила 2 мм. Результат измерения этого же снимка врачом экспертом составил 2,3 мм. Рисунок 3. Поскольку цена деления шкалы расстояния, представленная на изображении, составляет 2,5 мм. можно говорить о несущественной разнице полученных значений. Причины разницы полученных значений могут заключаться в некорректном выделении границ и различном выборе точек измерения как системой, так и врачом экспертом.

В таблице 1 представлены значения ТВП, полученные системой и экспертом с разных изображений. По данным таблицы можно сделать вывод о том, что все результаты, полученные системой, отличаются от результатов, представленных экспертом, незначительно.



Рис. 3. Результат измерения ТВП врачом экспертом.

Таблица 1

Сравнение результатов измерений ТВП системой и врачом экспертом

| Название изображения | Значение ТВП, полученное системой, мм | Значение ТВП, полученное экспертом, мм |
|----------------------|---------------------------------------|--|
| Изображение 1 | 2.0 | 2.1 |
| Изображение 2 | 2.0 | 2.3 |
| Изображение 3 | 1.8 | 2.0 |
| Изображение 4 | 2.3 | 2.1 |
| Изображение 5 | 1.7 | 2.0 |
| Изображение 6 | 1.4 | 1.6 |

Следует отметить, что почти все значения, полученные системой меньше чем значения, представленные экспертом, что, скорее всего, свидетельствует о том, что система и эксперт по-разному выделяют границы контура. Применение разработанной системы как с целью измерения ТВП пациентов, так и с образовательной целью требует дальнейшего тестирования, обсуждения с врачом экспертом ультразвуковой диагностики и опытной эксплуатации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Блинов А.Ю.: Во всех странах это называется «Медицина плода», а в нашей стране до сих пор - «пренатальная диагностика» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.med74.ru/persona57.html>. – 02.05.2012.
2. The Fetal Medicine Foundation. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://fetalmedicine.org/research/research-publications?filters%5B0%5D=trimesterfirst&filters%5B1%5D=nuchal-translucency>.
3. Калашникова Н.В. Обзор методов распознавания графических образов / Наука ЮУрГУ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.lib.susu.ac.ru/ftd?base=SUSU_KONF&key=000526924&dtype=F&etype=.pdf. – 2014.

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА
КАРДИОМИОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА,
АССОЦИИРОВАННОЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

А.Ф. Канев

Научный руководитель: к.б.н. Д.С. Кондратьева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский
институт кардиологии»,

Россия, г. Томск, ул. Киевская, 111а, 634012

E-mail: alexkanev92@gmail.com

**FUNCTIONAL ACTIVITY OF SARCOPLASMIC RETICULUM OF CARDIOMYOCYTES IN
PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE ASSOCIATED WITH DIABETES MELLITUS
TYPE 2**

A.F. Kanev

Scientific supervisor: D.S. Kondratyeva

Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Institute for Cardiology", Russia, Tomsk,
Kievskaya str., 111a, 634012

E-mail: alexkanev92@gmail.com

***Abstract.** The aim of the study was to estimate the remodeling of sarcoplasmic reticulum (SR) in patients with ischemic heart disease associated with diabetes mellitus type 2. SR functions were evaluated using post-rest test. The amount of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase (SERCA2a) in cardiomyocytes was evaluated using Western Blotting. It was shown that SR function and SERCA2a concentration is better preserved in patients with ischemic heart disease associated with diabetes mellitus type 2, than in patients with ischemic heart disease.*

Прогрессирование ишемической болезни сердца при сахарном диабете 2 типа обусловлено тяжёлыми метаболическими нарушениями, приводящими к значительному угнетению диастолической функции левого желудочка [1, 2]. Причиной развития диастолической дисфункции у таких больных может быть патология кальций-транспортирующих систем саркоплазматического ретикулума (СР) кардиомиоцитов [3, 4]. В связи с увеличением распространенности в популяции сахарного диабета 2 типа изучение механизмов его влияния на развитие патологии миокарда приобретает все большую актуальность.

Цель работы. Изучение функции саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов пациентов с сердечной недостаточностью, ассоциированной с сахарным диабетом 2 типа.

Материал и методы. В исследование включено 14 пациентов с диагнозом ИБС, хроническая сердечная недостаточность (II-III функциональный класс по NYHA), и 13 больных ИБС, ассоциированной с сахарным диабетом 2 типа. Всем пациентам было показано коронарное шунтирование. Средний возраст больных в обеих группах составлял $50,6 \pm 2,4$ лет.

Работа выполнена на трабекулах ушка правого предсердия. Перфузию мышц осуществляли при $36,5^{\circ}\text{C}$ оксигенированным раствором Кребса-Хензеляйта при частоте стимуляции 0,5 Гц. Функцию СР

кардиомиоцитов оценивали по изменению показателей инотропной функции изолированных мышц в изометрическом режиме при выполнении теста с периодами покоя (4-60 сек). Оценивали динамику механической релаксации как зависимость амплитуды сокращения от длительности периодов покоя. Уровень Ca^{2+} -АТФ-азы (SERCA2a) в биопсийном материале миокарда пациентов определяли методом Вестерн-блоттинга. Достоверность полученных результатов оценивали по критерию Манна-Уитни.

Результаты. Электрофизиологическое тестирование изолированных трабекул миокарда пациентов показало, что инотропная реакция на периоды покоя может быть 2 типов. I тип инотропной реакции мышц характеризовался тем, что после периодов покоя амплитуда сокращений либо оставалась на уровне базовых значений, как в случае пациентов с ХСН, либо превышала базовые значения, как в случае больных с сочетанной патологией. Динамика механической релаксации миокарда пациентов с ХСН оставалась на уровне базовых сокращений вне зависимости от длительности периодов покоя, тогда как амплитуда сокращений миокарда больных с сочетанной патологией с увеличением длительности периодов покоя повышалась (Рис. 1).

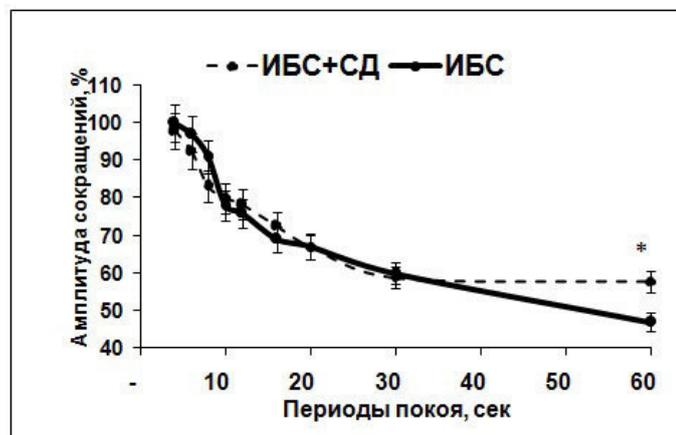


Рис. 1. Первый тип инотропной реакции. * - $p < 0,05$, достоверное различие между группами пациентов

При II типе реакции инотропный ответ мышечных полосок значительно угнетался. Динамика механической релаксации в этом случае имела обратную зависимость, т.е. с увеличением длительности периода покоя амплитуда сокращений снижалась, независимо от группы пациентов (Рис. 2).

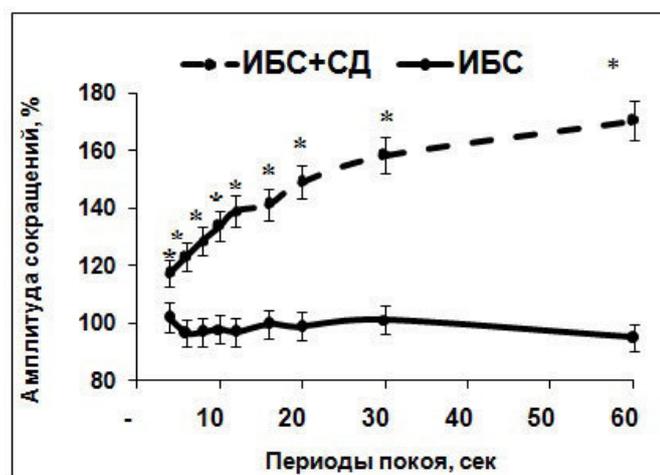


Рис. 2. Второй тип инотропной реакции. * - $p < 0,05$, достоверное различие между группами пациентов

В ходе исследования содержания SERCA2a в миокарде пациентов оказалось, что в обеих рассматриваемых группах присутствовали больные, миокард которых содержал высокий уровень Ca²⁺-АТФ-азы, и пациенты с низким содержанием этого кальций-транспортирующего белка. По этому признаку мы с помощью метода кластерного анализа разделили каждую из групп на подгруппу пациентов с «высоким содержанием» Ca²⁺-АТФ-азы и подгруппу с «низким содержанием» Ca²⁺-АТФ-азы (таблица 1).

Таблица 1

Выраженность различий между I и II группами пациентов в зависимости от содержания Ca²⁺-АТФ-азы (M±SD)

| Подгруппы | Группы пациентов | |
|---|------------------|---------------|
| | I (ИБС) | II (ИБС + СД) |
| Высокое значение Ca ²⁺ -АТФ-азы, ед/мг белка | 15,32±4,4 | 20,87±7,38* |
| Низкое значение Ca ²⁺ -АТФ-азы, ед/мг белка | 4,53±2,49 | 7,05±3,19 |

Примечание: *- p<0,05, достоверное различие между группами пациентов

При сопоставлении данных, полученных в ходе электрофизиологического исследования, с результатами иммуноблоттинга, оказалось, что первый тип реакции наблюдается у пациентов с высоким уровнем SERCA2a, а второй - у больных с низким её содержанием.

Заключение. Ремоделирование на уровне кардиомиоцитов при сердечной недостаточной может происходить с сохранением или с нарушением функций кальций – транспортирующих систем СР. Оптимальный процесс ремоделирования кардиомиоцитов предполагает сохранение высокого уровня кальций-транспортирующего белка Ca²⁺-АТФ-азы СР. Развитие сердечной недостаточности при ИБС, ассоциированной с сахарным диабетом 2 типа, характеризуется повышенным уровнем SERCA2a в кардиомиоцитах, что может иметь определяющее значение при определении лечения и прогнозировании исхода заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бокарев И. Н., Великов Б. К., Шубина О. И. Сахарный диабет. - М.: Медицинское информационное агентство, 2006 - 400 с.
2. Movahed M. R., Hashemzadeh M., Jamal M. M. (2005). Diabetes mellitus is a strong, independent risk for atrial fibrillation and flutter in addition to other cardiovascular disease. International Journal of Cardiology, no. 3, pp. 315-318.
3. Sakata S., Lebeche D., Sakata N. et al. (2007). Targeted gene transfer increases contractility and decreases oxygen cost of contractility in normal rat hearts. American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology, no. 292(5), pp. H2356-2363.
4. Razeghi P., Young M. E., Cockrill T. C. et al. (2002). Downregulation of myocardial myocyte enhancer factor 2C and myocyte enhancer factor 2C-regulated gene expression in diabetic patients with nonischemic heart failure. Circulation, no.106(4), pp. 407-411.

**ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОРДЮРНЫХ И ПОЛЯРНЫХ КЛЕТОК В
ЯИЧНИКАХ CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA MG. (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)**

К.М. Климова, Т.В. Ананьина

Научный руководитель: к.б.н. Т.В. Ананьина

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: xenia.k.m13@gmail.com

**THE CYTOLOGIC CHARACTERISTIC OF BORDER AND POLAR CELLS IN OVARIES
CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA MG. (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)**

K.M. Klimova, T.V. Anan'ina

Scientific Supervisor: PhDT.V. Anan'ina

Tomsk State University,

Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: xenia.k.m13@gmail.com

Abstract. *We studied the cluster of border and polar cells into egg cells Calliphora erythrocephala Mg. We have identified of the morphological changes that occur with border and polar cells during epithelial-mesenchymal transition. We counted the number of cells in a cluster, and described the actin cytoskeleton in cells cluster.*

Морфологические изменения клеток чаще всего связаны с их дифференцировкой. Но в некоторых случаях уже дифференцированные эпителиальные клетки, организованные в пласты и имеющие характерное строение (полярность, многочисленные межклеточные контакты, специфичную организацию цитоскелета) перестраиваются, приобретая мезенхимальный фенотип и способность к активной миграции. Этот процесс, впервые описанный как морфологическая перестройка клеток при формировании эмбриональных тканей (эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП)), позже был предложен в качестве механизма прогрессии эпителиальных опухолей в сторону дедифференцированного, более злокачественного фенотипа [1]. Изучение ЭМП важно для понимания механизмов опухолевой инвазии и метастазирования.

Для изучения ЭМП и процесса клеточной миграции удобна небольшая группа бордюрных клеток (БК), которые дифференцируются из слоя эпителиальных клеток на переднем полюсе яйцевых камер в яичниках *Drosophila melanogaster*. Сигналом к началу ЭМП БК является активация экспрессии гена *unpaired (upd)* в полярных клетках (ПК), находящихся на переднем и заднем полюсах яйцевой камеры. ПК дифференцируются значительно раньше, чем БК, они не способны мигрировать сами по себе. На 9-ой стадии оогенеза пара ПК на переднем полюсе яйцевой камеры рекрутирует соседние эпителиальные клетки в кластер вокруг себя и с их помощью перемещается к ооциту [2].

Целью нашего исследования было изучение изменения морфологии БК и ПК во время ЭМП и миграции в яйцевых камерах *C. erythrocephala* Mg. Задачи исследования: 1. Изучить изменение формы и

размеров ПК и БК и их ядер во время ЭМП и миграции. 2. Подсчитать количество клеток, участвующих в миграции в составе кластера. 3. Изучить особенности локализации F-актина в цитоплазме ПК и БК на стадиях образования и миграции кластера.

Ядра клеток окрашивали флуоресцентным красителем DAPI, F-актин – фаллоидином, конъюгированным с FITC. Препараты анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа AxioImager Z1 и модуля ApoTome. Обработку микрофотографий проводили в программе AxioVision 4.7.

У двукрылых насекомых в яичниках ооциты и связанные с ним питающие клетки формируют отдельные яйцевые камеры, покрытые слоем кубического фолликулярного эпителия, клетки которого делятся по мере роста яйцевой камеры. Первыми среди покрывающих яйцевую камеру эпителиальных клеток, начинают дифференцироваться 2 ПК [3]. У *C. erythrocephala* ПК находятся в окружении нескольких БК, которые постепенно начинают изменять форму, вытягиваясь по направлению к питающим клеткам, при этом происходит изменение размеров и положения их ядер, которые смещаются в сторону удлинения. Средний диаметр интерфазных ядер клеток фолликулярного эпителия, покрывающего яйцевую камеру во время её роста (до начала дифференцировки) – около 5,4 мкм. Диаметр ядер ПК во время миграции кластера увеличивается до 7,5 – 10 мкм., а диаметр ядер БК – до 10 – 18 мкм. На начальных этапах формирования кластера ПК смещаются на вершину линзообразной структуры, которая формируется бордюнными клетками. Завершается ЭМП формированием кластера сферической формы из БК и ПК. В центральной части сформировавшегося кластера появляются локальные точкообразные скопления F-актина, вероятно, являющиеся местами адгезионных контактов между клетками кластера (рис. 1 А). Особенно хорошо выражен контакт между ПК – скопление F-актина имеет вид плоского диска (рис. 1 Б). Возможно, благодаря этому контакту ПК на протяжении всего процесса миграции кластера находятся рядом. Поскольку до выхода из эпителиального слоя таких скоплений в цитоплазме клеток не наблюдается, можно предположить, что до начала ЭМП основную роль в межклеточном взаимодействии играют контакты другого типа (десмосомы, плотные контакты). После того, как клетки обособились, они объединяются между собой в кластер в основном за счет адгезионных контактов, в образовании которых участвуют актиновые микрофиламенты. У *C. erythrocephala* в кластер объединяются 2 ПК и 6-9 БК (рис. 1 В-В'). Таким образом, количество ПК у изученных видов двукрылых насекомых всегда 2, а количество БК – варьирует: у *D. melanogaster* – 4-6 [2, 3], у *Pr. terraenovae* – 8-12 [4], у *Parasarcophaga sp.* – 16-30 (неопубликованные данные).

После того, как кластер отделился от фолликулярного эпителия, у БК начинают формироваться фило- и ламеллоподии, с помощью которых происходит перемещение БК между питающими клетками по направлению к ооциту (рис. 1 Г). Форма клеток и их ядер на этой стадии изменяется, БК смещаются друг относительно друга (рис. 1 В, Д). Когда кластер достигает ооцита, его форма меняется: БК распределяются по поверхности ооцита, а ПК располагаются над ними. Клетки и их ядра значительно уплощаются из-за давления на них крупных питающих клеток (рис. 1 Е).

Анализ бордюрных и полярных клеток в яйцевых камерах *C. erythrocephala* показал, что бордюрные клетки претерпевают морфологические изменения, характерные для ЭМП: изменение формы, потеря контактов с окружающими их клетками эпителия, перестройка актинового цитоскелета, обеспечивающая клеткам подвижность. Поскольку клетки мигрируют группой, между ними сохраняются, а возможно и усиливаются адгезионные контакты, которые не мешают клеткам смещаться друг относительно друга и

менять форму кластера во время миграции. Т.к. адгезионные контакты относятся к гомофильным, то есть соединяют клетки одинакового типа, возникает вопрос: образуются ли они между полярными и бордюрными клетками, или же бордюрные клетки образуют вокруг двух полярных клеток капсулу, удерживая их тем самым в составе кластера.

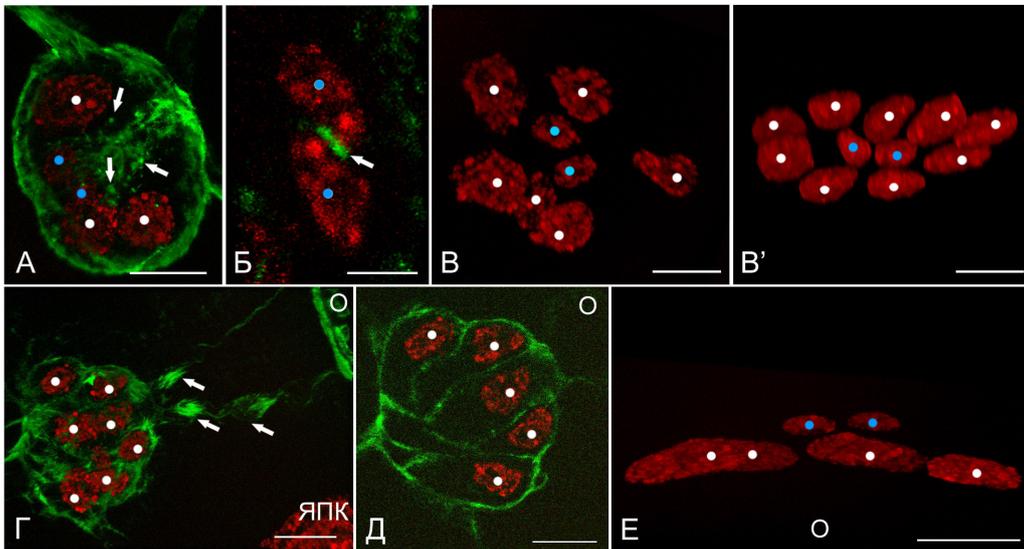


Рис 1. Полярные и бордюрные клетки в яйцевых камерах *C. erythrocephala*. А – актин-богатые структуры в цитоплазме клеток (предположительно – адгезионные контакты между полярными и бордюрными клетками). Б – контакт между двумя полярными клетками. В-В' – вариации в количестве клеток в кластере (В - 2 ПК + 6 БК; В' - 2 ПК + 9 БК). Г – выросты плазматической мембраны бордюрных клеток, содержащие параллельно расположенные пучки актиновых микрофиламентов. Д – изменение формы клеток и позиции ядер бордюрных клеток во время миграции. Е – расположение клеток на поверхности ооцита после окончания миграции. Белыми точками обозначены ядра бордюрных клеток. Голубыми точками обозначены ядра полярных клеток. ЯПК – ядро питающей клетки. О – ооцит. Ядра окрашены DAPI, F-актин окрашен фаллоидином-FITC. Шкала на рис. 2 А, В-Е – 20 мкм., на рис. 2 Б – 10 мкм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lamouille S., Xu J., & Derynck R. (2014). Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, no. 15(3), pp. 178-96
2. Montell D.J. (2003). Border-cell migration: the race is on. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, no. 1, pp. 13–24
3. А.А. Огиенко, О.В. Лаухина, Г.В. Васильев, Э.М. Баричева Нарушение формирования соматических клеток в яйцевых камерах *Drosophila melanogaster* у мутантов по гену *trichorax-like* // Вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12. – № 3. – С. 399–498.
4. Климова К.М., Ананьина Т.В. Миграция полярных и бордюрных клеток в оогенезе *Protophormia terraenovae* R-D. (Diptera: Calliphoridae) // Материалы трудов XII Международной конференции студентов и молодых ученых "Перспективы развития фундаментальных наук". – Томск, 2015. – С. 793-795.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИКОЗИДОВ И ФЕНОЛГЛИКОЗИДОВ

А.М. Кондранова

Научный руководитель: доцент, к.х.н. М.Л. Белянин

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: amk2@tpu.ru

RESEACH OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF GLYCOSIDES AND PHENOLGLYCOSIDES

A.M. Kondranova

Scientific Supervisor: Assoc. Prof., PhD in Chemistry M.L Belyanin

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

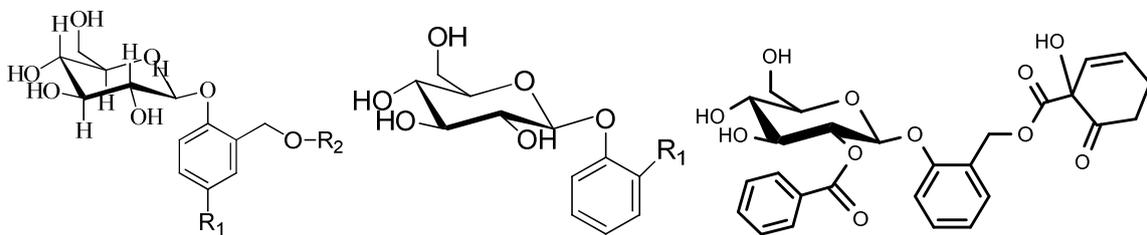
E-mail: amk2@tpu.ru

***Abstract.** Some of the preparations based on the bark of aspen (*Populus tremula*) are popular drugs for the treatment of various diseases. Today, the study of antibacterial activity from the bark of aspen phenolglycosides, is less well understood. Increasingly, there is a significant increase in the number of microorganisms resistant to antibiotics, which creates the need to find a new, more efficient and powerful antibiotics.*

Фенолгликозиды – это группа гликозидов, агликоном которых являются фенолы. Они являются вторичными метаболитами. Некоторые препараты, изготовленные на основе коры осины (*Populus tremula*) являются популярными лекарственными средствами для лечения различных заболеваний. Биологическая значимость активность определяется ее химическим составом. Кора ивы содержит большое количество биологически активных веществ, среди которых наиболее важными являются фенолгликозиды- салицин и другие производные салициловой кислоты [1]. Немецкий ученый из Фармацевтического института, Университета имени Карла Маркса города Лейпциг У. Тиме еще в 60-ых годах обнаружил с помощью хроматографических и спектральных методов анализа в коре разных видов ивы идентифицировал гликозиды салициловой кислоты, среди которых определены такие вещества, как салицин, гликозид, расщепляющийся при ферментативном гидролизе на спирт салигенол, который в дальнейшем гидролизуется на салициловый альдегид и салициловую кислоту. Кроме салициловой кислоты в коре и листьях разных видов ивы содержатся и другие гликозиды салициловой кислоты, в частности салидрозид, саликозид, салирепозид, фрагалин, саликортин, триандрин, вималин, тремулоидин и другие соединения. Фенольные гликозиды оказывают самое различное действие на организм человека [2]. Но, необходимо отметить, несмотря на применение растений, содержащих фенольные гликозиды, в современной терапевтической практике, все-таки их возможности еще не раскрыты в полной мере [3]. Поэтому, создание новых, изучение уже открытых свойств растений, содержащих фенольные гликозиды, может занять достойное место в будущих научно- исследовательских работа. Сама по себе осина обладает целым рядом лечебных свойств. Отвары и настои почек осины применяют при артритах,

подагре, воспалениях мочевого пузыря, болезненном мочеиспускании, геморрое, гипертрофии и при других заболеваниях. Спиртовая настойка почек осины применяется при гастритах, дизентерии, геморрое, циститах. Мазь из осиновых почек применяют при болях в суставах, при хронических язвах, для заживления ран. Отвар коры применяют как средство для борьбы с поносом, гастритом, для улучшения функционирования пищеварительного тракта. Свежие листья осины обыкновенной применяют для лечения геморроя. Листья применяют при подагре и ревматизме в виде припарок. Сок из свежих листьев применяют для лечения лишая, выведения бородавок [2, 3].

Антимикробная и активность фенолгликозидов коры осины (*Populus tremula*) мало изучена [4]. Изучение противомикробной активности *in vitro* основана угнетении роста культуры микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*. Эти микроорганизмы являются условно патогенными. Определение проводили методом дисков на плотной питательной среде [5]. Проводилось исследование фенолгликозидов. Брали соединения: салицин, салирепозид, тремулацин, гелицин, крезилглюкозид 4-гидроксибензоил-салирепин, ваниллоил-салицина. Данные феногликозиды были синтезированы или выделены (тремулацин) из коры осины на кафедре БИОХ, НИ ТПУ [3,4].



R₁, R₂ = H салицин (1);

R₁ = COH гелицин (6);

Тремулацин (8).

R₂ = COPh, R₁ = OH
салирепозид (2);

R₁ = CH₃ крезилглюкозид (7).

R₁ = H, R₂ = COPh,
дезоксисалирепозид (3);

R₁ = OH, R₂ = COPh (4-ОН. 3-
OMe) ваниллоил-салирипин
(4);

R₁ = OH; R₂ = 4-ОН-PhCO, 4-
гидроксибензоил-салирепин
(5).

Таблица 1

Качественная характеристика влияния на рост микроорганизмов

| Соединения | Микроорганизмы | |
|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Bacillus subtilis</i> |
| 1. Салицин | - (50);* | + (0,5) |
| 2. Салирепозид | + (0,5) | - (0,5) |
| 3. Дезоксисалирепозид | - (0,5) | + (0,5) |
| 4. Ваниллоил- салирипин | - (10) | + (10) |
| 5. 4-гидроксибензоил-салирепин | - (10) | + (10) |
| 6. Гелицин | - (0,5) | + (0,5) |
| 7. Крезилглюкозид | + (0,5) | - (0,5) |
| 8. Тремулацин | - (0,5) | - (0,5) |

(*)-концентрация вещества в диске (мкг).

+ - угнетает рост; - - не влияет на рост.

Результаты исследования:

- 1) На основе полученных данных, можно сделать следующие выводы, например, что большинство фенолгликозидов оказывают влияние на *Bacillus subtilis*;
- 2) Более активными ингибиторами роста оказались эфиры гидроксibenзойных кислот и фенолгликозидов (ваниллоил-салирипин, 4-гидроксibenзоил-салирипин);
- 3) *Pseudomonas aeruginosa* устойчива к действию большинства фенолгликозидов;
- 4) Ни один из исследованных фенолгликозидов не показал себя активным во всех случаях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кретович В.Л. Биохимия растений. - М.: Высшая школа, 1980. - 445с.
2. Шмерко Е.П. Лечение и профилактика растительными средствами - Баку: Издательство «Азербайджан», 1992. - 314 с.
3. Степанова Е.В. Сложные эфиры фенокислот фенолгликозидов общие методы синтеза и нахождение в коре *Populus tremula* (осины обыкновенной): Автореф. дис. канд. хим. наук. - Томск, 2014. - 3 – 4 с.
4. Stepanova E.V. First total chemical synthesis of natural acyl derivatives of some phenolglycosides of the family *Salicaceae* / Belyanin, M.L., Stepanova, E.V., Ogorodnikov, V.D. // *Carbohydr. Res.*, 2012. – V. 363. – P. 66–72
5. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. - XI изд. Вып. 2. М.: «Медицина» 1990, 210-224 с.

DEVELOPMENT OF THE PORTABLE REFLECTANCE PULSE OXIMETER

A.A. Kupin

Scientific Supervisor: Associate professor, Ph.D. A.N. Aleinik
Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050
E-mail: amir.kupin@inbox.ru

РАЗРАБОТКА МАЛОГАБАРИТНОГО ОТРАЖАТЕЛЬНОГО ОКСИМЕТРА

А.А. КУПИН

Научный руководитель: Доцент, кандидат физико-математических наук. А.Н. Алейник
Национальный исследовательский Томский политехнический университет,
Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050
E-mail: amir.kupin@inbox.ru

***Аннотация.** В статье описывается импульсный оксиметр для контроля обратно рассеянного света живых тканей. Устройство состоит из небольшого оптического преобразователя и фотодетектора. Выход фотодетектора разделяется на два канала. Информация обрабатывается компьютером. Предложенные решения позволяют снизить влияние движения на результаты. Экспериментально получено оптимальное давление датчика на тело, которое равняется 0,7 Н. Получено хорошее отношение сигнал / шум. Предварительные результаты показывают, что устройство обладает хорошим разрешением и надежностью.*

Pulse oximeters are commonly used in research and clinical settings to provide a non-invasive, continuous estimate of the oxy-haemoglobin saturation of arterial blood. Moreover, oximeters are useful for monitoring subjects under a variety of conditions: anesthesia, labor and delivery, cardiovascular or respiratory compromise. Accurate assessment of blood gases is fundamental to the support of critical-care medicine. Traditionally, blood gases have been measured by invasive sampling. Pulse, blood pressure, and oxygen saturation - the most vital and complex parameters, as they are characteristic of heart and lung function [1-3]. In the treatment of cancer with radiotherapy and chemotherapy the tumor tissues become resistant to these kinds of treatment due to an insufficient supply of oxygen. Not to spend the extra, ineffective therapy sessions there is the need to track the degree of oxygenation of the tumor during treatment. For this purpose, reflectance oximeters may be used, but they are used in medicine quite rare, due to imperfections in their design. Reflectance oximeter has a definite advantage, as it can be used to perform measurements in any part of the body [4-6]. During open heart surgery such oximeter gives more reliable results, as it can be positioned in a desired location. Reflectance oximeters are more complex devices due to the strong scattering of light and for this reason not been widely used. The main disadvantage limiting the application of the reflective oximeter is a low level of signal. Non-invasive measurement of hemoglobin saturation in the arteries based on the difference between the absorption coefficients of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin, measured at two wavelengths. The red light with a wavelength of 660 nm and infrared light with a wavelength of 1300 nm is commonly used in present study. The result is obtained by dividing the pulse components of red light to infrared light pulse component. Change in the intensity of light

received by the detector is due to changes in vessel diameter during systole and diastole. The layout of the reflectance pulse oximeter for diagnostic purpose is designed at the department of applied physics, Physical-technical institute, National Research Tomsk Polytechnic University. Block diagram of the device is shown in Figure 1.

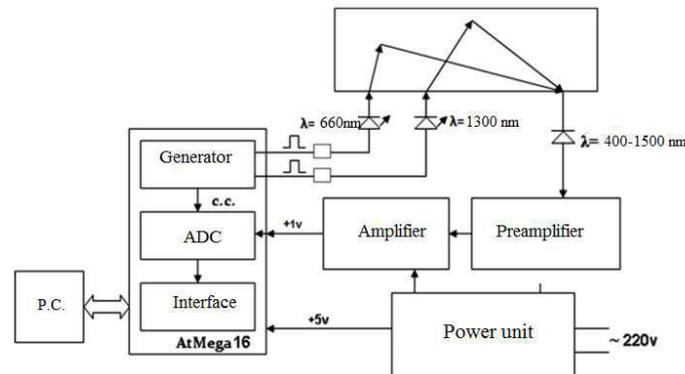


Fig.1. Block-diagram of the device

The device consists of an optical transmitter and receiver part for collecting and processing data. The main control element is a microcontroller Atmega16. Signal is processed by a 10-bit ADC. Each LED is controlled via a multiplexer. The main task is to find the AC signal by eliminating its constant part. This task is accomplished by an operational amplifier. Typically, LEDs are directly controlled by the voltage. The disadvantage of this method is the dependence of the LED's amplitude flash on the temperature. To eliminate this shortcoming, the current source is designed. The saturation of hemoglobin is a measure of the average amount of oxygen bound to each hemoglobin molecule. One of the factors affecting the change in the intensity of the recorded light is a sensor motion, which is caused by the formation of the gap between the skin and the sensor. The second factor is the perturbation of venous blood flow, which depends on the movement of the muscles surrounding the veins. To reduce the impact of movements on the readings, two ways of attaching the sensor - adhesive tape and elastic tape have been tested. Mounting the sensor with adhesive tape led to a significant reduction of the reading changes. If the sensor's contact pressure on the body is too low, it results in a reading distortion. Too much pressure value manifested in reducing the blood flow and the probe readings, while during prolonged use can lead to necrosis. To select the optimal value of the contact pressure, the experiment was conducted. Different values of the load were applied to the sensor. Measurements of oxygen saturation were performed for each value of the load. Special attention was paid to the uniform distribution of the load. The results of the measurement are shown in Figure 2.

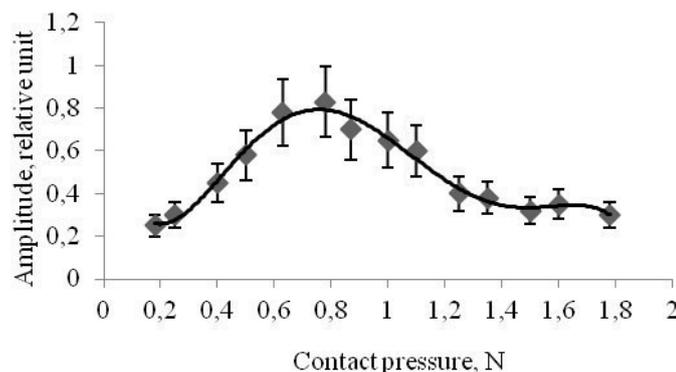


Fig.2. Amplitude dependence on sensor's contact pressure

As it can be seen from the graph, the optimal pressure value is 0.7 N. Next, the device was checked for the presence of hypoxia. The device was attached to the volunteer's forehead with a tape. Then the oxygen saturation measurement was conducted during normal breathing, followed breath holding for 30s. This test confirmed operability of the device Fig.3

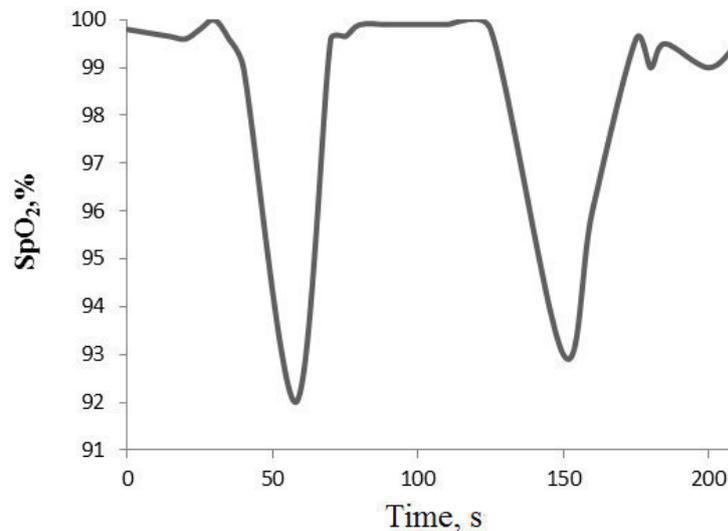


Fig.3. Typical view of the presence of hypoxia

The proposed solutions made it possible to reduce the impact of movement on the probe readings. Experimentally obtained optimum sensor contact pressure on the body is - 0.7N. Applied schematics have improved device characteristics compared with existing analogues.

REFERENCES

1. Miyasaka, K., Aoyagi, T., (2002) Pulse oximetry: Its invention, contribution to medicine, and future tasks, *Anesthesia and Analgesia*. no. 94, pp. 1-3.
2. Matsushita, N., Aoki, K., (2003) Fundamental Study of Reflectance Pulse Oximetry, *Opt. Rev.* no. 10, 5, pp. 482-487.
3. Webster, J.G. (1997) *Design of Pulse Oximeters*, Institute of Physics Publishing, Tomsk.
4. Ida, T., Itakura, M., Ohing, C., Takatani, S. (1997) A new Hybrid Reflectance Optical Pulse Oximetry Sensor for lower oxygen saturation measurements and for broader clinical application. *SPIE*. no. 87, pp. 78-87.
5. Yocum, B. L., Mendelson, Y., Kent, J. C. and Jirle M. (1988) Design and Evaluation of a New Reflectance Pulse Oximeter Sensor. *Medical Instrumentation*. no.22, pp. 167-173.
6. Crerar-Gilbert, A.P., Kyriacou, P.A. (2002) Assessment of photoplethysmographic signals for the determination of splanchnic oxygen saturation in humans, *Anaesthesia*. no. 57, pp. 442-45.

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ 1

Т.А. Кургина, Р.О. Анарбаев, О.И. Лаврик

Научный руководитель: профессор, д.х.н. О.И. Лаврик

Алтайский государственный университет

Россия, г.Барнаул, пр. Ленина, 61, 656049

E-mail: t.varennikova@gmail.com

DEVELOPMENT OF TEST-SYSTEM FOR ANALYSIS THE ACTIVITY OF THE ENZYME POLY (ADP-RIBOSE) POLYMERASE 1

T.A. Kurgina, R.O. Anarbaev, O.I. Lavrik

Scientific Supervisor: Prof, Dr. O.I. Lavrik

Altay State University, Russia, Barnaul, Lenin str., 61, 656049

E-mail: t.varennikova@gmail.com

***Abstract.** The activity of the poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) on damaged DNA was studied. The test-system for real-time assay has been developed to monitor the poly(ADP-ribosil)ation activity of PARP1. Also, we have analyzed interaction PARP1 with XRCC1 on DNA. It was shown that this system may be used for researching the PARP1 activity and monitor the interaction PARP1 with some enzymes on DNA.*

Система репарации генетических повреждений восстанавливает повреждения, возникшие в ДНК в результате воздействия разнообразных мутагенных факторов. Одним из ключевых ферментов, регулирующих активность репарационных машин, является поли(АДФ-рибозо)полимераза 1 (PARP1). Основной функцией PARP1 считается обнаружение разрывов ДНК. Он осуществляет поли(АДФ-рибозил)ирование ядерных белков (в том числе самого себя) используя в качестве субстрата NAD⁺ при возникновении повреждений ДНК. В данном случае повреждённая ДНК служит кофактором. Полимер поли(АДФ-рибозы) имеет отрицательный заряд, его ковалентное присоединение к PARP1 приводит к диссоциации из комплекса с ДНК. Полимер поли(АДФ-рибозы) имеет отрицательный заряд, его ковалентное присоединение к PARP1 приводит к диссоциации от ДНК [1]. Помимо этого, PARP1 взаимодействует со многими ферментами, обеспечивающими стабильность генома. Он участвует в таких процессах, как эксцизионная репарация нуклеотидов и оснований, репарация двунитевых разрывов, транскрипция, образование веретена деления и др. Во время апоптоза PARP1 одним из первых разрушается каспазами. Такое обилие функций и ведущая роль в репарации разрывов ДНК делает PARP1 перспективной мишенью для поиска новых противораковых препаратов. Существующие ингибиторы PARP1 зарекомендовали себя в роли химио- и радиосенсибилизирующих агентов. Потеря активности PARP1 уменьшает воспалительные процессы в опухоли, ингибирует два взаимосвязанных ключевых признака рака (пролиферативная сигнализация и метастазирование) за счет противовоспалительных механизмов [2]. Кроме того, показано блокирование ангиогенеза опухоли при применении ингибиторов

PARP1 [3]. Перспективно применение ингибиторов PARP1 в терапии BRCA1-ассоциированных опухолей [4].

Целью работы являлось создание тест-системы, позволяющей анализировать активность PARP1 *in vitro*, а также изучение активности PARP1 на ДНК-субстратах с различными повреждениями и взаимодействии его с другими ферментами системы репарации ДНК.

В качестве субстратов мы использовали двухцепочечные олигонуклеотиды, содержащие липкий конец, гэл и ник. На 3'-конце одной из цепей находился 5(6)-карбоксихлорофлуоресцеин (FAM). Суть метода заключается в измерении анизотропии флуоресценции реакционной смеси, содержащий олигонуклеотид, PARP1 и NAD⁺. В ячейках со свободным олигонуклеотидом анизотропия минимальна. При добавлении PARP1 происходит увеличение уровня анизотропии, отражающее комплексообразование фермента с ДНК. При добавлении к данной смеси NAD⁺ происходит поли(АДФ-рибозил)ирование фермента, его диссоциация с ДНК и уменьшение анизотропии.

Для определения основных кинетических констант было произведено варьирование концентрации NAD⁺ и PARP1. В первом случае на основе данных о зависимости скорости убыли анизотропии от концентрации NAD⁺ были рассчитаны K_m для каждого субстрата. Во втором – рассчитаны K_d, на основании зависимости уровня анизотропии от концентрации PARP1. Кроме того, нами были рассчитаны k_{cat}. Результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Кинетические константы PARP1

| Структура ДНК | K _d (нМ) | K _m (мкМ) | k _{cat} (мин ⁻¹) |
|---------------|---------------------|----------------------|---------------------------------------|
| Липкий конец | 45±1,4 | 18,1±3,2 | 0,149±0,003 |
| Гэл | 43±0,37 | 41,3±8,1 | 0,128±0,004 |
| Ник | 32±2,3 | 26,5±7,4 | 0,162±0,008 |

Кроме того, данная тест-система была апробирована для изучения образования комплекса PARP1 с другими ферментами с системы репарации ДНК. Нами был выбран фермент XRCC1, с которым PARP1 образует комплекс *in vivo*. Состав реакционных смесей представлен в Таблице 2, результаты измерений на Рис.1.

Таблица 2

Состав реакционных смесей

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----|-------|------------------|-------|-------|------------------|
| ДНК | ДНК | ДНК | ДНК | ДНК | ДНК |
| | PARP1 | PARP1 | | PARP1 | PARP1 |
| | | | XRCC1 | XRCC1 | XRCC1 |
| | | NAD ⁺ | | | NAD ⁺ |

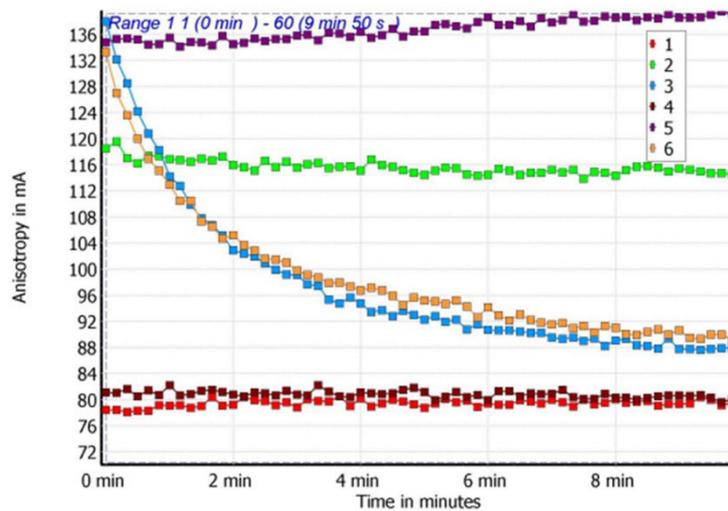


Рис.1. Анализ взаимодействия PARP1 с XRCC1 в присутствии ДНК

Минимальное значение анизотропии соответствует свободному олигонуклеотиду. Добавление XRCC1 не дает достоверного увеличения анизотропии, что может быть связано с образованием олигомеров на отдельных молекулах субстрата, или формой фермента. Однако, комплекс PARP1-XRCC1-ДНК имеет большую анизотропию, чем PARP1-ДНК. При добавлении NAD⁺ в ячейках, содержащих происходит диссоциация комплекса от ДНК и снижение анизотропии до уровня, близкого к свободной ДНК.

Таким образом, мы разработали тест-систему для изучения активности PARP1 *in vitro*. Мы изучили активность PARP1 на ДНК-субстратах с различными повреждениями. Полученные данные говорят о том, что наибольшее сродство PARP1 и скорость реакции характерны для ДНК и одонитевым разрывом (ником). Так же нами изучено связывание PARP1 с XRCC1 на ДНК. Полученные данные говорят о возможности использования данной тест-системы для изучения активности ДНК, скрининга ингибиторов и изучения комплексообразования с другими ферментами системы репарации на ДНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Суханова М. В., Лаврик О. И., Ходырева С. Н., Поли(ADP-рибозо)полимераза1 - регулятор белково-нуклеиновых взаимодействий в процессах, возникающих при генотоксическом воздействии // Молекулярная биология. – 2004. – № 5. – С. 834-847.
2. Weaver A. N., Yang E. S. (2013). Beyond DNA repair additional functions of PARP-1 in cancer. *Frontiers in oncology*, no. 3, pp. 121-128.
3. Pyriochou A., Olah G., Deitch E.A., Szabo C. Papapetropoulos A. (2008). Inhibition of angiogenesis by the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor PJ-34. *International journal of molecular medicine*, no. 22, pp. 113-118.
4. Rodler E., Korde L., Gralow J. (2010). Current treatment options in triple negative breast cancer. *Breast Disease*, no. 32, pp. 99-122.

**ПРИМЕНЕНИЕ НАНОСЕКУНДНОГО ЭЛЕКТРОННОГО ПУЧКА ДЛЯ
ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ СТОЧНЫХ ВОД**

А. А. Курилова

Научный руководитель: доцент, к.м.н. М.В. Чубик

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: kaa-3132@mail.ru

THE USE OF NANOSECOND ELECTRON BEAM FOR WASTEWATER DISINFECTION

A. A. Kurilova

Scientific Supervisor: docent, PhD M.V. Chubik

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: kaa-3132@mail.ru

Abstract. The objective of the study is to consider the possibility of applying the nanosecond electron beam for neutralize of various groups of microorganisms living in wastewater. The advantages of this method have been illustrated. The mechanism of influence of ionizing radiation on cells has been described. The microbial suspension has been irradiated by a nanosecond electron beam, and then the effectiveness of the electron beam as a disinfecting agent has been assessed. On the example of some cultures of microorganisms, it has been shown that the nanosecond electron beam is an effective disinfecting agent for the of wastewater treatment.

В связи с наметившейся тенденцией по снижению объемов применения хлора и хлорсодержащих реагентов для очистки стоков предприятий, одной из самых актуальных задач является совершенствование методик обеззараживания сточных вод. Наиболее перспективны безреагентные методы очистки сточных вод, в частности, обеззараживание воды наносекундным электронным пучком (НЭП).

На сегодняшний день исследователями выявлен широкий спектр применения наносекундного электронного пучка для радиохимической стерилизации, например, данный метод может быть использован для стерилизации медицинских инструментов и перевязочных материалов [1]. Также в ряде работ указывается на возможность применения электронного пучка для очистки бытовых сточных вод от органических примесей, нефтепродуктов и отходов текстильной промышленности [2, 3]. На основании этого мы можем сделать вывод о перспективности использования электронного пучка в качестве стерилизующего агента для дезинфекции сточных вод.

Бактерицидный эффект ионизирующего излучения (ИИ) обеспечивается его прямым (физическим) и косвенным (химическим) действием. При движении излучения через вещество, кроме ионизации и возбуждения, имеет место разрыв молекулярных связей, что приводит к поражению биологических тканей. Косвенное же действие излучения обуславливается тем, что под его воздействием в воде образуются свободные радикалы, которые интенсивно реагируют друг с другом и с молекулами вещества. Во время этих реакций в клетке может образоваться перекись водорода, что является губительным для некоторых видов микроорганизмов [4]. Учитывая, что нас интересует обеззараживание

водных взвесей микроорганизмов, данный механизм приобретает дополнительную значимость. Биологическое действие ионизирующих излучений связано с количеством энергии, которое поглощается клеткой или тканью, в связи с чем важно определить поглощенную дозу излучения.

Целью данной работы являлось определение эффективности использования электронного пучка для обезвреживания различных групп микроорганизмов, обитающих в сточных водах. Эксперименты проводились на примере культур *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Staphylococcus aureus* в стационарной фазе роста (по литературным данным, в этой фазе микроорганизмы наиболее устойчивы к воздействию ионизирующего излучения) [4]. Культуры выращивались на ГРМ агаре, после чего готовились микробные взвеси определенной концентрации по СО мутности бактериальных взвесей (СОП № 1-98, 5 ед.), которые затем помещались в кюветы (рис.1) и подвергались облучению на электронном ускорителе (ТЭУ-500). Исследовался эффект воздействия НЭП при поглощенной дозе 2,2 и 4,4 Мрад для каждой из культур, и 1 и 2 Мрад для культур *E. coli* и *B. subtilis*. После облучения осуществлялся контроль результатов, для чего стерильным шприцом производился забор микробной суспензии из кюветы и посев на плотную питательную среду. Параллельно проводился контрольный посев микробной культуры, необлученной пробы и контроль стерильности питательной среды. Материалы помещались в термостат при 37°C. Наблюдали через 24 и 48 часов. Условия эксперимента приведены в таблице 1.

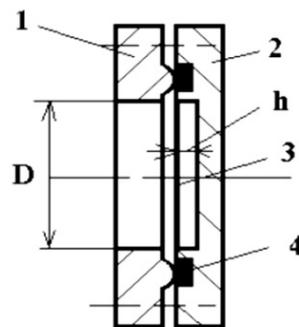


Рис. 1. Схема кюветы

1-крышка, 2 - корпус, 3 - фольга, 4- -прокладка; D = 15 мм.

Таблица 1

Условия проведения эксперимента

| Микроорганизм | Питательная среда | Объем микробной суспензии | Концентрация, кл/мл | Поглощенные дозы, Мрад |
|-----------------------|-------------------|---------------------------|---------------------|------------------------|
| <i>E. coli</i> | ГРМ агар | 60 мкл | 6×10^8 | 1; 2; 2,2; 4,4 |
| <i>B. subtilis</i> | | | $0,2 \times 10^8$ | 1; 2; 2,2; 4,4 |
| <i>Ps. aeruginosa</i> | | | 6×10^8 | 2,2; 4,4. |
| <i>Kl. pneumoniae</i> | | | 6×10^8 | 2,2; 4,4. |
| <i>St. aureus</i> | | | 6×10^8 | 2,2; 4,4. |

Контроль результатов показал, что при поглощенных дозах 2,2 и 4,4 Мрад проходит полное обезвреживание всех культур. Рост не проявляется в течение трех суток, в то время как рост на контроле

культуры и контроле необлученной пробы проявляется уже через 24 часа, а через 48 часов в случае *Ps. aeruginosa* наблюдается пигментация среды.

При поглощенной дозе 2 Мрад проходит полное обезвреживание культур *E. coli* и *B. subtilis*. При дозе 1 Мрад обезвреживание культуры *B. subtilis* не осуществляется, в отличие от *E. coli*. Такая разница в величине эффективной стерилизующей дозы обусловлена свойствами самих микроорганизмов. *B. subtilis* относится к спорообразующим бактериям, соответственно существует вероятность образования спор, чем и объясняется его более высокая устойчивость к облучению. Кроме того, *E. coli* является грамотрицательным микроорганизмом, а *B. subtilis* – грамположительным. Грамположительные бактерии отличаются меньшей радиочувствительностью, что связано с более прочным строением клеточной стенки по сравнению с грамотрицательными бактериями. Таким образом, можно сделать вывод о том, что для разных групп микроорганизмов эффективные стерилизующие дозы различны.

Результаты эксперимента приведены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты воздействия НЭП на культуры микроорганизмов

| Микроорганизм | Поглощенные дозы, Мрад | | | | | Контроль культуры |
|-----------------------|------------------------|---|---|-----|-----|-------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 2,2 | 4,4 | |
| <i>E. coli</i> | + | - | - | - | - | - |
| <i>B. Subtilis</i> | + | + | - | - | - | - |
| <i>Ps. aeruginosa</i> | + | 0 | 0 | - | - | - |
| <i>Kl. pneumoniae</i> | + | 0 | 0 | - | - | - |
| <i>St. aureus</i> | + | 0 | 0 | - | - | - |

«-» - отсутствие микробного роста; «+» - наличие микробного роста; «0» - эксперимент не проводился.

Таким образом, на примере культур *E. coli*, *B. subtilis*, *Ps. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*, *St. aureus* доказано, что наносекундный электронный пучок обладает бактерицидными и бактериостатическими свойствами. Установлено, что при поглощенных дозах 2,2 и 4,4 Мрад проходит полное обезвреживание всех перечисленных культур, при дозе 1 Мрад – культуры *E. coli*, 2 Мрад – *B. subtilis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Котов Ю. А., Соковнин С. Ю. Обзор применения наносекундного электронного пучка для радиохимической стерилизации // Плазменные науки. – 2000. – 28 (1). – pp. 133-136.
2. Хашим С.А., Бакар К.А., Отман М.Н. Электронный ускоритель: новый инструмент для охраны окружающей среды в Малайзии // Американский институт физики – труды конференции – 2012. – 1482. – pp. 210-213.
3. Вильсон А., Парехо Кальво и др. Электронные ускорители - тенденции в области технологии радиационной обработки для промышленного и экологического применения в Латинской Америке и Карибском бассейне // Радиационная физика и химия – 2012. – 81. – pp. 1276–1281.
4. Туманян М. А., Каушанский Д. А. Радиационная стерилизация. – М.: Медицина, 1974. – 304 с.

ИЗУЧЕНИЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СЕЛЕНИТ-ИОНОВ БАКТЕРИЯМИ РОДА *AZOSPIRILLUM*

П.В. Мамченкова, А.А. Камнев, А.В. Тугарова

Научный руководитель: к.б.н. А.В. Тугарова

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,

Россия, г. Саратов, пр. Энтузиастов, 13, 410049

E-mail: norgeadress@gmail.com

STUDY OF SELENITE REDUCTION BY BACTERIA OF THE GENUS *AZOSPIRILLUM*

P.V. Mamchenkova, A.A. Kamnev, A.V. Tugarova

Scientific Supervisor: Dr. A.V. Tugarova

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences,

Russia, Saratov, Prosp. Entuziastov, 13, 410049

E-mail: norgeadress@gmail.com

Abstract. Toxicity of the Se^{IV} oxyanion SeO_3^{2-} (selenite) to *Azospirillum brasilense* (strains Sp245, Sp7, Sp245.5) and *A. picis* (strain TAR-3) was studied together with their ability to reduce selenite with the formation of elementary Se nanoparticles. Possible pathways of selenite reduction in azospirilla are also discussed.

Селен является микроэлементом для организмов всех доменов жизни, а также у вирусов. Он входит в состав активных центров различных ферментов, например, глутатионпероксидазы. С другой стороны, селен в высоких концентрациях токсичен, вследствие чего его называют «необходимым токсином» (essential toxin). Многие микроорганизмы обладают способностью переводить растворимые и, как следствие, более токсичные оксоанионы селена (в степенях окисления +4 и +6, селениты и селенаты) в нерастворимый, малотоксичный элементарный селен (Se^0). Восстановление оксоанионов Se изучено не до конца, оно может включать различные метаболические пути. Восстановление селенита до элементарного селена у микроорганизмов может идти следующими путями: (i) с помощью высоко- и низкомолекулярных соединений, содержащих тиоловые группы (например, глутатиона или его функционального аналога у рода *Bacillus* – бациллитиола), – так называемые Painter-type reactions [1]; (ii) с участием системы тиоредосин – тиоредоксинредуктаза; (iii) с участием сидерофоров; (iv) может быть связано с восстановлением сульфат-ионов; (v) с участием различных редуктаз [2]. Так, восстановление селенита до элементарного селена может происходить под действием нитратредуктазы у *Escherichia coli* [3] либо нитритредуктазы у *Rhizobium* [4]. Упоминается, что способность к восстановлению селенитов, селенатов и теллуридов часто сопряжена с процессом денитрификации [5]. Также за восстановление селенита могут отвечать некоторые шапероны, факторы элонгации и некоторые ферменты, ответственные за реакции окислительного стресса, как это показано для *Rhodobacter sphaeroides* [6].

В работе нашей лаборатории исследуются клеточные ответы на различные внешние факторы у бактерий рода *Azospirillum*, одних из наиболее изучаемых фитостимулирующих ризобактерий. Ранее в работах нашей группы было впервые для азоспирилл показано, что клетки *A. brasilense* способны восстанавливать золотохлористоводородную кислоту с образованием золотых наночастиц [7] и Na_2SeO_3

до Se^0 с образованием наночастиц селена (Se-НЧ) [8]. С помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и спектроскопии энергетических потерь электронов было показано образование Se-НЧ в процессе роста азоспирилл в присутствии Na_2SeO_3 .

Как известно, бактерии рода *Azospirillum* способны к денитрификации; кроме того, процесс восстановления оксоанионов селена может быть связан с процессами денитрификации [3–5]. Так как селенит-ион структурно подобен нитрат-иону, было предположено, что у азоспирилл восстановление селенита может идти через включение селенит-иона в процессы денитрификации. Для проверки данного предположения был использован мутант *A. brasilense* Sp245.5, наряду с изменением других свойств, потерявший способность к синтезу нитритредуктазы. Предполагалось, что он может быть неспособен восстанавливать селенит (в этом случае колонии в присутствии Na_2SeO_3 в среде не будут окрашены).

Проведенные эксперименты показали, что, по сравнению с исходным штаммом *A. brasilense* Sp245, мутант Sp245.5 был способен выдерживать на порядок бóльшие концентрации Na_2SeO_3 (это может быть связано с изменением свойств его поверхности [7]), но при этом сохранял способность восстанавливать Na_2SeO_3 (колонии были окрашены в красный цвет). Полученные данные свидетельствуют о возможном участии в восстановлении селенита у азоспирилл различных путей. Также было показано, что мутантный штамм Sp245.5, наряду с диким штаммом, способен к синтезу Se-НЧ (*Puc 1*).

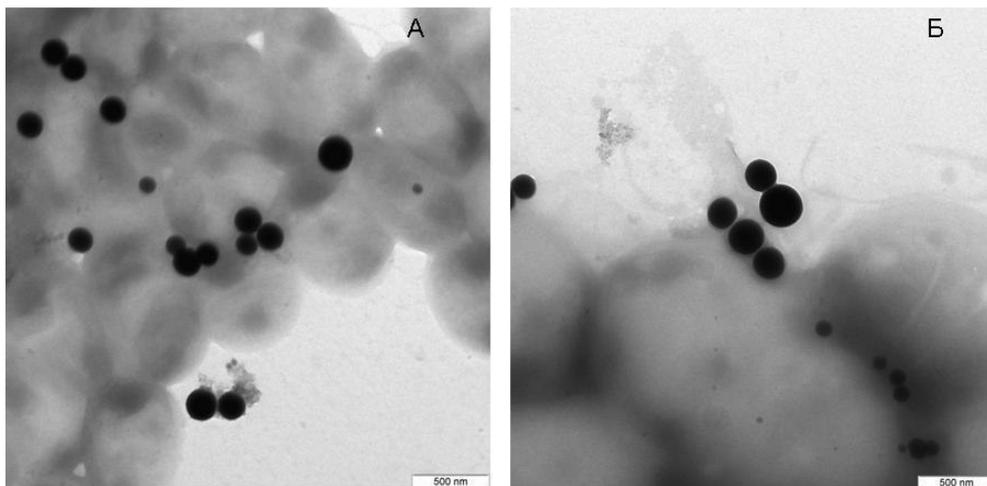


Рис. 1. Наночастицы элементарного селена, полученные с помощью *A. brasilense* Sp245(А) и его мутанта *A. brasilense* Sp245.5 (Б). Масштабная линейка – 500 нм

Проведенный эксперимент по локализации восстановления селенита, показал, что способностью восстанавливать Na_2SeO_3 обладают только живые клетки, а не надосадочная жидкость, содержащая различные экскретируемые в процессе жизнедеятельности клеток низко- и высокомолекулярные соединения, в том числе и различные экстраклеточные ферменты. Кроме того, термически обработанные клетки также не были способны к восстановлению селенита. При обработке бактериальных клеток ингибитором дыхания (СССР, карбонилцианид-*л*-хлорфенилгидразол) на микрофотографиях, полученных с помощью ПЭМ, было зафиксировано восстановление Na_2SeO_3 с образованием кристаллов, но не наночастиц. Для штамма *A. brasilense* Sp7 было показано, что размер и количество

синтезированных Se-НЧ зависит как от концентрации Na_2SeO_3 , так и от первоначальной плотности культуры. Аналогичная зависимость была показана и для штамма Sp245.

В работе также тестировался другой вид азоспирилл – *A. picis*. Было показано, что токсические концентрации селенита для этого штамма одного порядка с ранее изученными для различных штаммов *A. brasilense*.

Способность восстанавливать соединения селена с образованием наночастиц распространена среди микроорганизмов и привлекает внимание нанотехнологов. Несмотря на интерес исследователей к этой теме, о механизмах микробного синтеза таких наночастиц известно немного. Se-НЧ, благодаря своим антибактериальным и антираковым свойствам, находят применение в медицине, а их необычные электронно-оптические и другие физические свойства используются в микроэлектронике, катализе и для создания биосенсоров [9], что обуславливает актуальность исследования их микробного синтеза.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 16-08-01302-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lampis S., Zonaro E., Bertolini C., Bernardi P., Butler C.S., Vallini G. Delayed formation of zero-valent selenium nanoparticles by *Bacillus mycoides* SeITE01 as a consequence of selenite reduction under aerobic conditions // *Microb. Cell Fact.* – 2014. – V. 13. – Article 35. – DOI: 10.1186/1475-2859-13-35.
2. Nancharaiah Y.V., Lens P.N.L. Ecology and biotechnology of selenium-respiring bacteria // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2015. – V. 79. – N. 1. – P. 61–80.
3. Avazéri C., Turner R.J., Pommier J., Weiner J.H., Giordano G., Verméglio A. Tellurite reductase activity of nitrate reductase is responsible for the basal resistance of *Escherichia coli* to tellurite // *Microbiology.* – 1997. – V. 143. – N. 4. – P. 1181–1189.
4. Basaglia M., Toffanin A., Baldan E., Bottegal M., Shapleigh J.P., Casella S. Selenite-reducing capacity of the copper-containing nitrite reductase of *Rhizobium sullae* // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2007. – V. 269. – N. 1. – P. 124–130.
5. Sabaty M., Avazeri C., Pignol D., Verméglio A. Characterization of the reduction of selenate and tellurite by nitrate reductases // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – V. 67. – N. 11. – P. 5122–5126.
6. Bebien M., Chauvin J.-P., Adriano J.-M., Grosse S., Verméglio A. Effect of selenite on growth and protein synthesis in the phototrophic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – V. 67. – N. 10. – P. 4440–4447.
7. Tugarova A.V., Burov A.M., Burashnikova M.M., Kamnev A.A. Gold(III) Reduction by the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* with the formation of gold nanoparticles // *Microb. Ecol.* – 2014. – V. 67. – N. 1. – P. 155–160.
8. Tugarova A.V., Vetchinkina E.P., Loshchinina E.A., Burov A.M., Nikitina V.E., Kamnev A.A. Reduction of selenite by *Azospirillum brasilense* with the formation of selenium nanoparticles // *Microb. Ecol.* – 2014. – V. 68. – N. 3. – P. 495–503.
9. Chaudhary S., Mehta S.K. Selenium nanomaterials: applications in electronics, catalysis and sensors // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2014. – V. 14. – N. 2. – P. 1658–1674.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАННОГО
СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ПРИ РАЗНЫХ СРОКАХ
ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОПЛАНТА**

Н. К. Маркова

Научный руководитель: научный сотрудник, к. б. н. Д.С. Кондратьева

ФГБНУ Научно-исследовательский институт кардиологии,

Россия, г. Томск, ул. Киевская, 111а, 634012

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: natalia.markova.92@mail.ru

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF CONTRACTILE ACTIVITY OF REMODELING HEART IN
CHRONIC ISCHEMIA AT DIFFERENT STAGES OF ALLOPLANT TRANSPLANTATION**

N.K. Markova

Scientific Supervisor: Researcher, Candidate of Biological Sciences D.S. Kondrat'eva

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Cardiology,

Russia, Tomsk, Kievskaya st., 111a, 634012

National Research Tomsk State University,

Russia, Tomsk, Lenina st., 36, 634050

E-mail: natalia.markova.92@mail.ru

***Abstract.** Alloplant contributes recovery of contractile activity of the remodeling myocardium. Alloplant transplantation 5 days after coronary occlusion leads to a more pronounced increase in the post-rest contraction potentiation compared with simultaneous alloplant transplantation or transplantation after 45 days, which indicates a more effective recovery of contractile activity.*

В настоящее время заболевания сердечно-сосудистой системы, такие как инфаркт миокарда очень широко распространены. Как известно, ишемический некроз участка миокарда после инфаркта заменяется соединительной тканью, которая не способна к сократительной деятельности. В связи с этим, наиболее эффективным способом лечения инфаркта миокарда считается терапия стволовыми клетками [1]. Однако, несмотря на значительные успехи такой терапии, клеточные технологии являются трудоемкими и сопряжены с осложнениями, связанными как с выращиванием аутологичных клеток, техникой их доставки, а также выживаемостью трансплантированных клеток в поврежденной ткани. В этом случае, эффективным способом восстановления функциональной активности миокарда может явиться тканевая инженерия с использованием биodeградируемых трансплантатов. Одним из таких трансплантатов является Аллоплант – химически обработанный пересадочный биоматериал, подвергнутый радиационной стерилизации [2]. Известно, что использование аллопланта при глубоком повреждении скелетной мышцы способствует полному восстановлению дефекта [3], что позволяет предположить возможность успешного применения биотрансплантата для восстановления

миокардальной ткани при ишемическом повреждении. В связи с этим целью данного исследования является сравнение сократительной активности ремоделированного сердца на разных сроках трансплантации аллопланта.

Исследования были выполнены на крысах-самцах линии Вистар, массой 180-200 г. Животных наркотизировали при помощи эфира. Инфаркта миокарда моделировали путем наложения лигатуры на левую нисходящую коронарную артерию. Суспензию аллопланта готовили extempore из сухого диспергированного порошка из расчета 10 мг на 3 мл стерильного физиологического раствора. Трансплантацию аллопланта производили путем инъекций по периметру левого желудочка сердца. Общий объем трансплантированного вещества составлял 600 мкл. Животных разделили на 4 группы: 1 – крысы с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС); 2 - трансплантация аллопланта одновременно с коронароокклюзией (КО); 3 - трансплантация аллопланта через 5 суток после КО, 4 – трансплантация аллопланта через 45 суток после КО. Через 45 суток после операции методом планиметрии оценивали размер зоны рубца в процентах от общей площади стенки левого желудочка и проводили электрофизиологические исследования (тест post-rest) на папиллярных мышцах, выделенных из левого желудочка. Для этого, выделенное сердце промывали охлажденным раствором Кребса-Хейзелайта (в мМ): NaCl – 120; KCl – 4,8; CaCl₂ – 2,0; MgSO₄ – 1,2; KH₂PO₄ – 1,2; NaHCO₃ – 20,0; глюкоза – 10,0. Сократительную активность мышц исследовали на установке STANDART SYSTEM FOR MUSCLE INVESTIGATION (Германия). К концам мышц привязывали капроновые петли, которые надевали на крючки – электроды, один из которых изометрический датчик (Force transducer KG-Series, Scientific Instruments GmbH, Германия). Перфузию мышцы осуществляли при 36±0,5°C оксигенированным раствором Кребса-Хейзелайта. Стимуляцию мышц проводили электрическими импульсами прямоугольной формы длительностью 5 мс с базовой частотой 0,5 Гц. При проведении теста post-rest оценивали интропную реакцию мышц на периоды покоя 4 - 60 секунд [4]. Кривую механической релаксации получали как зависимость между длительностью периода покоя и амплитудой первого после периодов покоя сокращения (в процентах) к базовому сокращению.

В ходе экспериментов было обнаружено, что у всех крыс контрольной группы развился постинфарктный кардиосклероз. Размер рубцовой ткани у этих животных составлял > 40%, при этом аневризма наблюдалась у крыс в 83% случаев. Во 2 группе развитие ПИКС наблюдалось только у 45% животных, при этом аневризма была обнаружена в 33 % случаев. У крыс третьей группы ПИКС развился у 71% животных, при этом у 43% крыс из группы сформировалась аневризма. У четвертой группы крыс ПИКС развился в 83 % случаев, а аневризма наблюдалась у 50 % животных. Проведение электрофизиологических исследований показало, что в контрольной группе крыс с ПИКС происходило снижение прироста амплитуды после более длинных интервалов периодов покоя. После 20, 30, 60 с прирост составлял 7, 6 и 3 % соответственно по сравнению с базовым сокращением (рис 1). Поскольку известно, что потенциация сокращения после периодов покоя связана с накоплением ионов кальция в саркоплазматическом ретикулуме (СПР) во время паузы [4], можно отметить, что формирование постинфарктного кардиосклероза сопровождается нарушением кальций-аккумулирующей способности СПР. Применение аллопланта независимо от срока трансплантации способствовало повышению амплитуды первого после паузы сокращения по сравнению с контролем. Так, введение аллопланта одновременно с КО способствовало повышению post-rest потенциации миокарда после 30 и 60 с пауз на

10% и 11% соответственно ($p < 0.05$) по сравнению с группой контроля (рис 1). В 3 группе наблюдалось достоверное повышение post-rest потенции миокарда на 21% после 30 с паузы и на 27% после 60 с паузы в сравнении с контрольной группой (рис 1). В 4 группе животных, как и во 2 группе наблюдалось повышение post-rest потенции ($p < 0.05$) после 30 и 60 с пауз на 10 % в сравнении с группой контроля (рис 1). Полученный результат указывает на то, что аллоплант одинаково эффективно восстанавливает сократительную активность миокарда как при его введении до формирования рубца, так и при его трансплантации после формирования рубца.

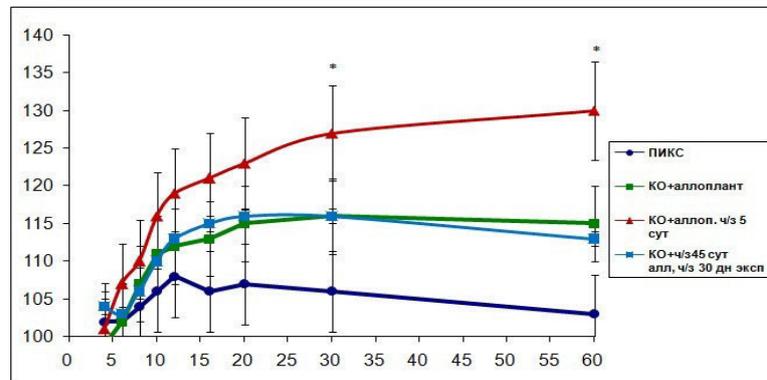


Рис. 1. Влияние разных сроков трансплантации аллопланта на механическую реституцию ремоделированного миокарда крыс

По оси абсцисс – длительность паузы (в секундах), по оси ординат – амплитуда сокращения, выраженная в процентах к базовой амплитуде. * - $p < 0.05$ – по сравнению с контролем

Исследование показало, что трансплантация аллопланта позволяет снизить инфаркт-индуцированные повреждения миокарда. Снижение повреждений оказывается наибольшим при введении аллопланта во время КО, чем при введении через 5 и через 45 суток после КО. Проведенные эксперименты показали, что интрамиокардиальная трансплантация аллопланта приводит к достоверному повышению post-rest потенции. Это свидетельствует о том, что аллоплант способствует восстановлению сократительной активности ремоделированного миокарда. Такой эффект может быть связан с сохранением или восстановлением функциональной активности СПР. Трансплантация аллопланта через 5 суток после КО приводит к более выраженному увеличению post-rest потенции сокращений, и, соответственно, более эффективному восстановлению сократительной активности миокарда по сравнению с трансплантацией аллопланта одновременно или через 45 суток после коронароокклюзии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лечение стволовыми клетками инфаркта миокарда [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.s-cells.ru/myocardial-infarction/> - 20.02.16.
2. Что такое Alloplant? [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.amurlaser.com/alloplant.htm>. - 22.02.16.
3. Лебедева А.И. Аллогенный губчатый биоматериал – ингибитор фиброза поврежденной скелетной мышечной ткани // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13. – № 4. – С. 37–44.
4. Д. С. Кондратьева, С. А. Афанасьев, С. В. Попов. Динамика зависимости интервал-сила папиллярных мышц крыс при остром и курсовом применении амиодарона // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69. - № 4. – С. 32–35.

**ДЕГРАДАЦИЯ ИСКУССТВЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ В КОЖЕ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В
КОСМЕТОЛОГИИ**

Г. А. Мартынов¹, И. Г. Белялова¹, А. С. Кульков².

Научный руководитель: к. м. н. И. Г. Белялова¹

¹Сибирский государственный медицинский университет

Россия, Томск, Московский тракт, 2, 634050

²Институт физики прочности и материаловедения СО РАН

Россия, Томск, просп. Академический, 2/4, 634055

E-mail: martynovga@bk.ru

DEGRADATION OF SYNTHETIC MATERIALS IN THE SKIN

G. A Martynov¹, I. G. Belyalova¹, A. S. Kulkov²

Scientific Supervisor: Ph.D. I. G. Belyalova¹

¹ Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moskovsky trakt 2, 634055

²Institute of Strength Physics and Materials Science SB RAS

Russia, Tomsk, pr. Akademicheskii 2/4, 634021

E-mail: martynovga@bk.ru

***Abstract.** In the study we investigated synthetic polydioxanone threads of size 30G, which are applied in cosmetics industry for the correction of wrinkles. According to some plastic surgeons, a fibrosis is formed in the procedure area after the introduction of these filaments. Therefore, the purpose of our study is to explore the effect of the thread introduction in the fabric on the fibrosis formation. Analysis has shown that the strands do not cause fibrosis after their introduction into the skin.*

Лифтинговая коррекция – это косметическая процедура по подтяжке кожи. Эффект лифтинга может достигаться как с помощью определенных косметологических процедур, так и при помощи пластической операции. Существуют различные виды: оперативный лифтинг; неоперативный лифтинг БТА; нитевой лифтинг; аппаратные методы; контурная пластика; биоармирование; повышение тонуса и укрепления кожи. При применении нехирургического лифтинга лица наблюдается укрепление кожи. Эффект неоперативных лифтинг - процедур временный или частичный. Продолжительность эффекта зависит от выбранной методики, типа старения и возраста.

Тредлифтинг 3D мезонитями - это техника установки нитей из абсолютно безопасного саморассасывающегося материала, позволяющего моделировать ткани в любых направлениях, включая те участки лица и тела, которые были недоступны другим технологиям.

Мезонити - это интактные нити, созданные из различного материала, как натурального, так и синтетического происхождения, внедряемые в кожу человека для создания необходимого косметического эффекта.

Применяются как эффективный лифтинг верхней, средней и нижней трети лица. Используется как локальная (в определенных зонах) коррекция рельефа и лифтинг определенных зон, так и комплексный лифтинг всего лица.

Механизм действия мезонитей: непосредственный эффект лифтинга за счет армирующего действия нитей. Длительное сохранение эстетического эффекта за счет неоллагиногенеза (12-36 мес), нет риска фиброза [1].

Биодеградация мезонитей состоит из нескольких этапов. Первый этап (от 3 до 6 нед): гидролиз нити только на поверхности, нет изменения прочности. Второй этап: фрагментация нити вследствие ее гидролиза, что приводит к накоплению мелких фрагментов и дальнейшей полной деградации нити. Классификация мезонитей: 1. Нити Monofilament (Polypropylene, Polydioxanone, Nylon, Catgut, Steel); 2. Multifilament (Polyester, Silk, Cotton, Polyamide, Vicryl, dextran) [4].

Характеристика полидеаксоновой мезонити: 1. Монофиламентная рассасывающаяся синтетическая нить с максимальным сроком сохранения прочности; 2. Высокая первоначальная прочность, снижающаяся с постоянной и одинаковой скоростью по всей протяженности нити; 3. Минимально травмирует ткани, легко протягивается; 4. Нет капиллярного эффекта - снижен риск инфекции. 5. Биодеградация 180-210 дней. Спустя 2 недели сохраняется 60% прочности нити.

Подготовка к проведению процедуры: 1. Анамнез (наличие на предполагаемом месте проведения процедуры деградируемых и перманентных филлеров, нитей с насечками, пластических операций); 2. Динамика веса пациента за последние несколько лет; 3. Было ли возникновение инфекции в месте проведения процедуры; 4. Наличие/отсутствие аутоиммунных заболеваний; 5. Характер ответа на травму (пигментация, рубцевание); 6. Фото (анфас, профиль 3/4); 7. Разъяснение сути процедуры пациенту, правила поведения после процедуры; 8. Подписание информированного согласия.[5]

По данным исследований некоторых производителей мезонитей, не отмечается никаких морфологических изменений кожи. Однако, многие пластические хирурги отмечают, что после произведённой лифтинговой коррекции (вживление мезонитей) отмечается увеличение плотности кожных покровов. Большинство из опрошенных, связывают это с образованием фиброза, после данной процедуры (нити не до конца рассасываются, и вокруг нитей, образуются фиброзные клетки, что и ведет к образованию фиброза различной степени) [2, 3].

В связи с этим, нами было проведено исследование, которое помогло бы подтвердить или опровергнуть одну из предполагаемых гипотез.

Для исследования были взяты: 10 белых мышей, различной возрастной группы (1 мес., 2 мес. и 3 мес.), разделенные на 2 временные группы: 1 группа - 7 дней, 2 группа - 14 дней.

Мыши были введены в состояние наркоза с помощью эфира, после чего на дорсальной поверхности (на спине) на расстоянии 1 см от хвоста, были введены нити (4 штуки), на расстоянии около 3 мм друг от друга. После проведения процедуры выведены из состояния наркоза.

Спустя 7 дней 1 временная группа мышей была забита и взяты лоскуты кожи, размером превышающим поле введения нитей приблизительно 1 см, для более точного гистологического исследования. Данные лоскуты были помещены в 6% формалин и направлены на гистологическое исследование. Было получено 5 предметных стекол и описание гистологов: кожа, эпидермис не изменены, волосяные фолликулы расположены в подкожной клетчатке, обычного строения. В

препаратах отсутствует воспалительный инфильтрат, отсутствуют участки фиброза. Инородных образований в пределах исследованного материала не обнаружено.

Спустя 7 дней была забита и 2 временная группа, дальнейшая процедура описана выше.

В ходе проведенного исследования установлено что, данные нити не вызывают клеточной реакции в организме и рассасываются полностью после их вдрения, в следствие чего можно сделать вывод, что при применении данных мезонитей, фиброза не возникает.

Таблица 1

Классификация мезонитей

| | Родовое название | | Сырье | Сохранение прочности (дни) |
|---------------|---|----------|--|-----------------------------------|
| Натуральные | Простой кетгут | | Подслизистая обол. Т. К. овец | 5-7 |
| Натуральные | Хромированный кетгут | | Кетгут импрегнированный солями хрома | 10-21 |
| Синтетические | Помигликопиен овая кислота (40-60 дней) | Dexon | Гомополимер гликопида | 24-30 |
| Синтетические | полиглактин | Vicryl | Кополимер молочной и гликолевой кислот | 24-30 |
| Синтетические | Полидиоксазон(180-240) | PDS | Полиэстер-полимер | 67-70 |
| Синтетические | Полигликонат | Maxon | | 40-50 |
| Синтетические | Полиглекапрон 25 | Monocryl | Кликопид-капролактон | 21-28 |

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anderson R. R., Parrish J. A. Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation // Science. – 1983. – P. 220.
2. Alser T. S. Q-switched alexandrite laser treatment (755nm) of professional and amateur tattoos // O Am Acad Dermatol. – 1955. – P. 33 - 69.
3. Alster T.S., Tanzi E.L., Welsh E., Photorejuvenation of facial skin with topical 20% 5-aminilevulinic acid and intense pulsed light treatment: a split-face comparison study // J Drugs Dermatol. – 2005. – P. 4 – 35.
4. Brauchle M., Fassler R., Werner S., Suppression of keratinocyte growth factor expression by glucocorticoids in vitro and during wound healing // J Invest Dermatol. – 1995. – P. 105.
5. Bernstein E. F. Laser treatment of tattoos // Clin Dermatol. – 2006 P. 24 – 43.

**СПЕЦИФИКА ОБЩЕТЕХНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВЫСОКОГОРНЫХ ТОРФОВ АЛТАЙСКОЙ
ГОРНОЙ ОБЛАСТИ**

С. О. Миронова

Научный руководитель: доцент, к.х.н., Л.Г. Васильевна

Горно-Алтайский государственный университет,

Россия, Республика Алтай, ул. Ленкина, 1, 649000

E-mail: steniyam@mail.ru

**THE SPECIFICS OF THE ENGINEERING PROPERTIES OF PEAT MOUNTAINOUS ALTAI
MOUNTAIN REGION**

S. O. Mironova

Scientific Supervisor: associate Professor, c.ch.n., L.G. Vasil'evna

Gorno-Altai state University, Russia, Republic of Altai, St. Lenkina, 1, 649000

E-mail: steniyam@mail.ru

***Abstract.** Studied General properties of transition and lowland peats in South-Eastern Altai. Quantitative content of total nitrogen, mobile phosphorus and potassium.*

Приоритетные направления развития Республики Алтай – это рекреация и туризм. Торфяное растительное сырье горных районов юга Сибири остается мало исследованным. Особенностью торфа как органического сырья является зависимость его состава и свойств от природных условий, в которых он формируется, сложность химического состава, а также неоднородность стратиграфии торфяных залежей. Химическая переработка и модификация торфа для медицины и бальнеологии, получение препаратов с определенными фармакологическими свойствами требует тщательной подборки торфяного сырья с характеристикой общетехнических свойств и углубленным изучением химического состава органических и минеральных компонентов, биологически активных соединений. Наличие сырьевой базы, низкая токсичность, широкий спектр фармакологических свойств различных биологически активных компонентов торфа определяют широкое исследование его фармакологических свойств [6, 7].

Исследования состава органического вещества торфов Северо-Восточного и Центрального Алтая показали, что гуминовые препараты, выделенные из регионального торфа, могут являться натуральными ингредиентами для кормовых добавок, ветеринарных препаратов и разнообразной продукции для курортологической отрасли Горного Алтая [1, 2, 3]. В результате проведенных исследований установлено, что применение экспериментального кормового гуминового препарата, полученного на основе переработки торфа Северо-Восточного Алтая, положительно отразилось на уровне микро- и макроэлементов, на морфологической и биохимической картине крови маралов-рогачей [3].

Целью представленной работы является определение общетехнических показателей и ряда элементов в переходных и низинных торфах Юго-Восточного Алтая. Степень разложения определяли по ГОСТ 28545-89, зольность - ГОСТ 11305-83, обменную кислотность (pH_{KCl}) - ГОСТ 11623-89, гидролитическую кислотность (H_T) – ГОСТ 27894.1-88, сумму поглощенных оснований (S_0) определяли по методу Каппена-Гильковица. Определение общего азота, подвижного фосфора (в пересчете на P_2O_5)

осуществляли по ГОСТ 27894.3.88-ГОСТ 27894.6-88, подвижного калия (в пересчете на K₂O) - по ГОСТ 26718-85 [4].

Проведенные ранее исследования компонентного состава органического вещества горных торфов выявили региональные особенности сырьевого потенциала республики [1, 2]. Общетехнические показатели и содержание ряда элементов в высокогорных торфах Юго-Восточного Алтая представлены в таблице. Переходный торф имеет обменную кислотность (рН_{КСl}), равную 4,8, гидролитическая кислотность (Н_г) его незначительна: 5,7-7,0 мг-экв/100 г. Средняя величина суммы поглощенных оснований составляет 29,1 мг-экв/100 г. При близкой зольности и величин обменной кислотности переходных торфов Северо-Восточного и Юго-Восточного Алтая различаются величины гидролитической кислотности и суммы поглощенных оснований: указанные показатели существенно выше для низкогорного торфа. Содержание подвижного калия в переходных торфах сопоставимое, количество общего азота в два раза больше в низкогорном переходном торфе. Высокогорный переходный торф содержит в 3 раза больше подвижного фосфора – 38 и 11,4 мг/100 г соответственно.

Таблица 1

Общетехнические свойства торфов Алтайской горной области

| Тип торфа/число проб | R; А, | Обменная кислотность рН _{КСl} | Гидролитическая кислотность Н _г | Сумма поглощенных оснований S ₀ | N _{общ} | P ₂ O ₅ | K ₂ O |
|------------------------|--------------------|--|--|--|------------------|-------------------------------|-------------------|
| | % | | | | | | |
| Юго-Восточный Алтай | | | | | | | |
| Переходный, n=5 | R 15-60; А 13,5 | 4,8 4,3-5,6 | 6,4 5,7-7,0 | 29,1 15,3-38,4 | 2,6 2,3-2,9 | 38,0 10,0-100,0 | 27,8 14,6-46,8 |
| Низинный, n=5 | R - А53,2 | 7,5 7,2-7,7 | 0,6 0-1,7 | 285,5 20,4-598,5 | 1,3 1,0-1,7 | 168,5 110-322,5 | 36,2 17,2-76,0 |
| Северо-Восточный Алтай | | | | | | | |
| Переходный, n=10 | R 10,3; А 5-45 | 4,1 3,1-5,3 | 55,2 36,0-96 | 176,8 164,0-196 | 5,2 2,0-5,9 | 11,4 5,0-24,0 | 24,4 6,0-98,0 |
| Низинный, n=21 | R 15-65; А 30,5 | 5,5 4,4-7,3 | 63,2 24,0-102 | 75,7 60,0-116 | 3,6 1,8-5,7 | 83,2 24,0-198,0 | 29,3 10,0-58,0 |

Горные торфа характеризуются значительным разбросом зольности от 7 до 56 %. Исследуемый низинный торф Юго-Восточного Алтая относится к высокозольным торфам (A_{ср} составляет 53,2 %). Зольность торфа, состав его минеральной части, кислотность отражают условия водно-минерального режима. Значительная зольность низинного торфа Юго-Восточного Алтая связана с его расположением в Кокоринской долине и обогащением зольными компонентами за счет вторичных эрозионных сносов с окружающих возвышенностей. Обменная кислотность высокогорного низинного торфа сдвинута в менее кислую область относительно таковой величины низкогорного торфа: 7,2-7,7 и 4,4-7,3 соответственно.

Отличительной особенностью низинного высокогорного торфа является очень малая, фактически нулевая гидролитическая кислотность (средняя Н_г 0,6 мг-экв/100 г), у низкогорного торфа – 63,2 мг-экв/100 г. Высокозольный торф юго-Восточного Алтая характеризуется фактическим отсутствием гидролитической кислотности. Аналогичная зависимость была выявлена для абайского и соузаровского торфов Центрального Алтая [5]. Малая величина Н_г низинных торфов Центрального и Юго-Восточного

Алтая является показателем их насыщенности основаниями, что удовлетворительно согласуется с их зольностью. Так, средняя величина суммы поглощенных оснований (S_0) для низинного высокогорного торфа составляет 285,5 мг-экв/100 г (при $A_{cp} = 53,2\%$), у низинного торфа Северо-Восточного Алтая S_0 составляет 75,7 мг-экв/100 г при средней зольности, равной 30,5 %.

Независимо от типовой принадлежности горных торфов большее содержание азота характерно для торфа Северо-Восточного Алтая: 3,6-5,2 %, в некоторых образцах переходного торфа его содержание достигает 5,9 %. Горные низинные торфа обогащены подвижным фосфором в отличие от переходных торфов, при этом в ряду н. торф Северо-Восточного Алтая → н. торф Юго-Восточного Алтая среднее содержание подвижного Р возрастает 83,2 → 168,5 мг/100 г. Содержание подвижного калия в горных торфах составляет в среднем 24,4-36,2 %.

В результате проведенных исследований выявлено разнообразие общетехнических показателей исследуемого торфяного сырья, которое необходимо учитывать при переработке регионального торфа, в частности, для разработки методов очистки высокозольных торфов. Знание особенностей состава и общетехнических свойств горных торфов позволяет управлять их свойствами в определенных технологических процессах и целенаправленно использовать ресурсы регионального сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ларина Г.В., Шурова М.В., Ченчубаев А.В. и др. Характеристика торфа, органоминеральных отложений и глин Горного Алтая, перспективные направления их использования // Материалы Междунар. конф., посвященной 115-летию Национального исследовательского Томского политехнического университета «Инновационные аспекты добычи, переработки и применения торфа». Томск: Изд-во Том. политех. ун-та, 2011. С.85–89.
2. Ларина Г.В., Кайзер М.И., Кузнецова О.В., Самбуу С.И. // Характеристика группового состава органического вещества торфа Алтайской горной области. –Вестник ТГПУ (TSPU Bulletin). 2015. № 2 (155). С. 171–177.
3. Н.М. Бессонова, Г.В. Ларина, Н.С. Петрусева, Л.И. Инишева, М.В. Шурова Применение природного гуминового препарата для улучшения продуктивности маралов Горного Алтая. Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук, № 6, 2012. С. 60–62.
4. Базин Е.Т., Копенкин В.Д., Косов В.И. и др. Технический анализ торфа / Е.Д. Базин, В.Д. Копенкин, В.И. Косов и др. – М.: Недра, 1992. – 431 с.
5. Ларина Г.В., Кайзер М.И., Шурова М.В. Физико-химические свойства горных торфов // Болота и биосфера: Материалы Всероссийской с междунар. участием IX школы молодых ученых (14-18 сентября, 2015 г, г. Владимир). – Иваново: ПресСто, 2015. – С. 225–230.
6. Бузлама А.В., Черных Ю.Н. Анализ фармакологических свойств, механизмов действия и перспектив применения гуминовых веществ в медицине // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73. - № 9. – С. 43–48.
7. Федько И.В., Гостищева М.В., Писниченко Е.О. Химико-фармакологическое исследование гуминовых комплексов торфов Западной Сибири // Информационные системы. 2004 год. Труды постоянно действующей научно-технической школы-семинара. – С. 54–57.

**DETECTION OF GENETICALLY MODIFIED SOYBEAN IN SOME PROCESSED FOOD
PRODUCTS IN RUSSIA**

D.S. Nsengiyumva

Scientific Supervisor: Prof., Dr. K. Darkazanli

Ural Federal University, Russia, Yekaterinburg, Mira Str., 28, 620002

E-mail: majoze16@gmail.com

**ОБНАРУЖЕНИЕ ТРАНСГЕННОЙ СОИ В НЕКОТОРЫХ ГОТОВЫХ ПРОДУКТАХ
ПИТАНИЯ В РОССИИ**

Д.С. Нсенгиюмва

Научный руководитель: профессор, д.б.н. К. Дарказанли

Уральский Федеральный университет,

Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 28, 620002

E-mail: majoze16@gmail.com

***Аннотация.** В настоящее время применение биотехнологий в пищевой промышленности является актуальным направлением исследований, в частности, в связи с импортозамещением и контролем содержания генно-модифицированных источников в пищевых продуктах. Целью наших исследований является обнаружение генно-модифицированных источников сои в некоторых готовых продуктах, продаваемых в России. В настоящей работе сравниваются два метода экстракции ДНК в обнаружении трансгенной сои, применяемых к большому числу соевых производных готовых продуктов питания, таких как напитки, печенье, шоколад, обработанное мясо, соевый соус и тофу.*

Introduction. The application of biotechnology in food industry is not new. Traditional biotechnology has played a key role in the production of food for over thousands of years. For many centuries, the process of fermentation has used microorganisms (yeasts and bacteria) to produce beer, yoghurt and cheese. Naturally, occurring microorganisms occur in bread making and beer brewing and nowadays, traditional biotechnology techniques are still widely used in the production and preservation of foods [1]. Modern biotechnology is a term adopted by international convention to refer to biotechnological techniques for the manipulation of genetic material and the fusion of cells beyond normal breeding barriers. The two main techniques that gave birth to modern biotechnology are as follows: A- Genetic Engineering: It includes techniques to alter the nature of genetic material (DNA and RNA) to introduce these into host organisms and thus change the phenotype of the host organism's-Chemical Engineering: It involves maintenance of sterile microbial contamination free condition in chemical engineering processes to have growth of only the desired microorganism/eukaryotic cell in large quantities for the manufacture of biotechnological products such as antibiotics, vaccines, enzymes, medicines, hormones, etc. Genetically modified organisms (GMOs) are organisms (i.e. plants, animals or microorganisms) in which the genetic material (DNA) has been altered in a way that does not occur naturally by mating and/or natural recombination. The technology is often called "modern biotechnology" or "gene technology", sometimes also "recombinant DNA technology" or "genetic engineering". It allows selected

individual genes to be transferred from one organism into another, also between nonrelated species. Foods produced from or using GM organisms are often referred to as GM foods [1]. The modification most commonly includes the transfer of one gene, many genes or region of genome of interest from a different species. Sometimes the transfer of artificially synthesized gene is also done into a target plant. The genetic material of interest is inserted into the crop's genome using a vector. This vector might contain several other elements, including viral promoters, transcription terminators, antibiotic resistance and marker genes (Fig. 1). Genetically engineered plants are generated in a laboratory by altering their genetic makeup and are tested in the laboratory for desired qualities. The genetic construct typically consists of the following elements: 1. The promoter, which functions as an on/off switch for when and where the modified gene is active in the recipient plant/organism (Fig. 2). 2. The gene of interest (Transgene) which encodes a specifically selected trait. 3. The terminator, which functions as a stop signal for transcribing the inserted/ altered gene. 4. Marker genes for distinguishing GMOs from non-GMOs during crop development may be present. 5. Selectable marker genes allow to identify or isolate the cells that express the cloned DNA and to monitor and select for the transformed progeny. 6. Residual DNA material from insertion plasmid vectors. The specific objectives of this study focus screening some commercially available by simple PCR techniques.

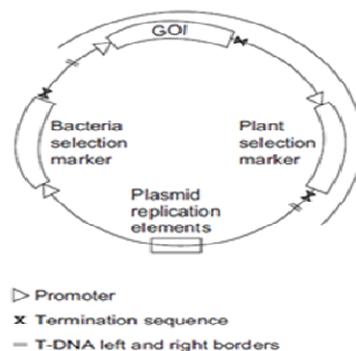


Fig. 1. Typical plasmid constructor for transformation into plant by *Agrobacterium tumefaciens* [1]

Materials and Methods. Soy-based products were obtained from local supermarkets. Sampling was ensured that no samples are labeled as containing GMO ingredients and belongs to different Russian brands. Twenty-two samples included a variety of food products: 1. Biscuits (wafer, biscuits covered with chocolate and plain biscuits), 2. Drinks (milk powder and liquid milk), 3. Processed meats (several types of sausage and hotdog), 4. Tofu, 5. Soya sauce. DNA Method, Pure Link™ Genomic Plant DNA Purification Kit. Concentration and Quality of Extracted DNA: Concentration and qualification of extracted DNA was determined by using a spectrophotometer at the absorbance of 260 nm (A260) and 280 nm (A280). The purity of extracted DNA was determined by using A260/A280 ratio. [2]. All oligonucleotide primers were diluted to working concentration of 10 μmol/μl with sterilized deionised water and stored at -20°C.

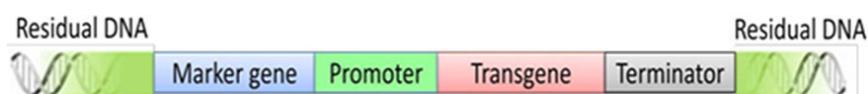


Fig. 2. Simplified representation of a constructed transgene, containing necessary elements for successful integration and expression

The amplifications by polymerase chain reaction (PCR) were performed in a thermal cycler. For each series, a master mix was prepared. Each PCR reaction mix 25 µl total reaction volume contained 5 µl of template DNA and the other necessary reagent are mixed together according to the instruction and completed to 25 µl with sterile deionised water after that the master mix was divided into aliquots of 20 µl in 0.2 ml PCR reaction tubes. All solutions are stored on ice during the preparation of the master mix.

Results. The results showed that the CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) -based protocol gave good DNA yield, and gave the best result and the highest DNA yield. The results showed that the CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) extraction method gave not only high DNA yield but also good DNA quality (purity) with the A260/A280 ratio in the range of (1.75-1.91).

Amplification of GMO-specific sequence represent by 35S promoter and NOS terminator to screen for the presence of transgenic material in samples (Table).

Table 1

Results of PCR Products for conventional PCR

| N. | Code | Food Products | lectin | P35s | nos | ESPSE | Pat |
|-----|------|-------------------------|--------|------|-----|-------|-----|
| 1. | A1 | Soya Milk | + | + | + | + | - |
| 2. | A2 | Milk powder | - | - | - | - | - |
| 3. | A3 | Milk powder | - | + | + | - | - |
| 4. | A4 | Milk powder | + | - | - | - | - |
| 5. | B2 | Biscuits with chocolate | + | + | + | + | - |
| 6. | B5 | Biscuits with chocolate | + | - | + | - | + |
| 7. | B6 | Wafer | - | - | - | - | - |
| 8. | B7 | Wafer | + | + | - | + | - |
| 9. | B13 | Plain biscuit | + | - | - | - | - |
| 10. | B14 | Plain biscuit | + | - | - | - | - |
| 11. | C1 | Chocolate | + | - | - | - | - |
| 12. | C3 | Chocolate | + | - | - | - | - |
| 13. | A9 | Baby milk powder | + | + | + | + | - |
| 14. | C8 | Chocolate with caramel | + | - | - | - | - |
| 15. | H2 | Hot dog | + | + | - | - | + |
| 16. | H3 | Hot dog | + | - | + | - | - |
| 17. | M8 | sausage | + | + | + | + | - |
| 18. | M9 | sausage | + | + | + | - | - |
| 19. | S1 | Soya sauce | + | + | + | + | + |
| 20. | T1 | Tofu | + | - | + | - | - |
| 21. | A7 | Baby milk powder | + | + | + | + | - |
| 22. | A10 | Baby milk powder | + | - | - | - | - |

Conclusion. CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) protocol was the best method with regard to the quantity, quality and amplification of the extracted DNA; the results clearly demonstrate the presence of GM soybean in the some food market.

REFERENCES

1. Tzotzos T.G; Head G.P; Hull R. (2009) genetically modified plants: Assessing Safety and Managing Risk. First edition, Academic Press is an imprint of Elsevier, UK.
2. Sambrook J, and Russel D (2001) Molecular Cloning: A laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3rd ED, New York, USA.

**PRODUCTION OF CAROTENIODES BY UTILISING BREWERY LIQUID WASTE
(RESTING YEASTS)**

D. Nsengumuemyi, S.A. Shatunova, Yu.Yu. Morzherin

Scientific Supervisors: Prof., E.G. Kovaleva, Ass. Prof. T.V. Glukhareva

Ural Federal University, Russia, Yekaterinburg, Mira Str.19, 620002

E-mail: nsedanco@gmail.com

**ПОЛУЧЕНИЕ КАРОТИНОИДОВ ПУТЕМ УТИЛИЗАЦИИ ЖИДКИХ ОТХОДОВ
(ОСТАТОЧНЫХ ДРОЖЖЕЙ) ПИВОВАРЕННОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

Д. Нсенгумуремый, С.А. Шатунова, Ю.Ю.Моржерин

Научные руководители: проф., к.х.н., Ковалева Е.Г., доц., к.х.н., Глухарева Т.В.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина,

Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, 620002

E-mail: nsedanco@gmail.com

*Аннотация. В тезисе рассмотрены вопросы о возможности получения в промышленных масштабах каротиноидов с использованием продуцента *Phaffia rhodozyma*. В рамках решения вопроса импортозамещения в России сырья для медицинской и пищевой промышленности предлагается использовать микробиологический способ получения каротиноидов, в котором в качестве одного из компонентов питательной среды используется дрожжевой экстракт, полученный из жидких отходов пивоваренной промышленности - остаточных дрожжей.*

Carotenoid production for medical purposes (antioxidants) and food industry (food coloring) can be carried out by synthetic and biotechnological methods. In Russia, industrial-scale carotenoids are obtained by processing vegetable raw materials [1]. This method of production has several drawbacks. The main ones are: production frequency, need for a large space and expansive equipment for raw materials storage. The drawbacks in producing carotenoids from plant raw materials are also their deficiency, low content of target products in raw plant, the dependence of carotenoids accumulation on climatic conditions, the complexity of the process control. Biotechnological production is an alternative for carotenoid production in industrial scale. Nowadays, natural carotenoids draw common attention. Moreover, biotechnological production of carotenoids is more economic sound due to the possibility of using low-cost food-industry wastes and industrial substrates, cheap agricultural raw materials as sources of nutrients. For instance, the capacity of *Phaffia rhodozyma* yeast to assimilate different carbon sources such as glucose, maltose, sucrose, cellobiose, xylose, arabinose, lactose and fructose is used for producing industrial pigments such as astaxanthin (54-100%), canthaxanthin (0-32%), β -carotene (0-11%), 3-hydroxyquinone (0-22%) and quinone (0-7%). Microorganisms such as zygomycetes species, *Blakislea trispora* are used for industrial production of carotenoids. *B. trispora*, for instance, is capable to produce lycopene and beta-carotene. Depending on culture conditions this microorganism produces either carotenoid in high concentration [1]. However, there are some drawbacks in using *B. trispora* as a producer. They include the

difficulties in microorganisms culturing under stirring and maintaining optimal conditions for aeration. The vegetative form of this producer is heterothallic mycelium.

Russian biotechnological production of carotenoids by using microorganisms is poorly developed. As of 2015 most of raw materials for the production of food colorants and medicines were delivered to Russia from abroad, namely, about 80- 100% of raw materials for the food colorants production are now imported. Prolonged stagnation in the development of cooperation between science and business has led to this situation. Today we can observe the fast development of practically orientated research and its implementation. Import substitution in the field of biotechnological production is one of the priority directions for the development of Russian economy. We developed the procedure for carotenoids production using microorganisms as producers and brewing industry liquid waste (resting yeast) as a source of nutrients. Brewery waste management is one of the most urgent tasks in food industry in Russia [2]. While the most of the developed countries of Europe and America have successful integrated approaches to solve this problem aimed to maximize utilization of waste weak interaction between business (for instance, in food industry) and science. Therefore, optimization of enterprises activities, efficient waste management and environmental conservation are still the problems in Russia.

The purpose of this work is biotechnological production of carotenoids such as astaxanthin and beta-carotene using *Phaffia rhodozyma* growing on the nutrients medium based on brewer's resting yeast extract. *Phaffia rhodozyma* was chosen as a producer by the following reasons: it has a relatively short culturing period (120-168 hours); it grows well both in solid and liquid synthetic or natural media containing carbon sources (glucose, sucrose), nitrogen (yeast extract, urea), mineral salts (magnesium sulfate, calcium chloride, etc.); it is heterotroph, facultative anaerobic and mesophilic microorganism with temperature range from 17 up to 23° C); it is able to grow large biomass (around 50-60 g/L); moreover, it belongs to a group of unicellular fungi and is easier separated from the liquid medium than bacteria [4]. Suspension of the brewery resting yeast was used for yeast extract preparation. The liquid and solid nutrient media based on the yeast extract were prepared for culturing carotenoids producer with introducing additional components (Fig. 1). Culturing was carried out in a liquid medium for 168 hours at 20 ° C with a speed of agitation 150 rpm. Extraction of carotenoids from the cells biomass was performed by suspending cells in dimethylphormamide (DMF), followed by extraction with ethyl acetate and hexane mixture

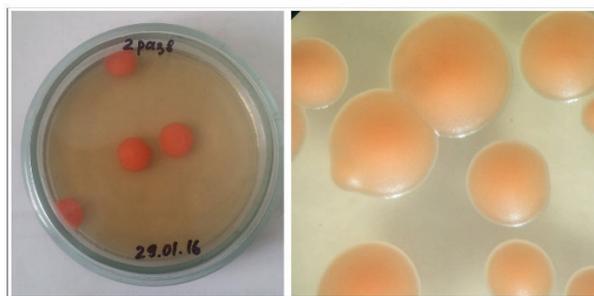


Fig. 1. *Ph. rhodozyma* colonies in a solid medium

in the ratio of 1:2. Qualitative and quantitative determination of carotenoids composition was carried out by high performance liquid chromatography with UV-visible detector. It has been shown that astaxanthin (Fig. 2) is the major component of the extract obtained (Fig. 3).

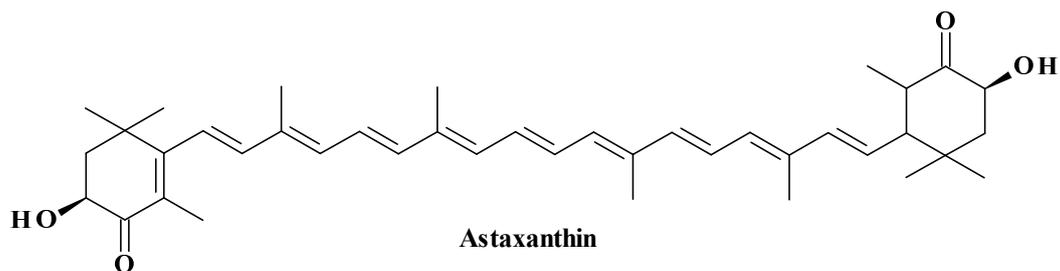


Fig. 2. Astaxanthin structural formula

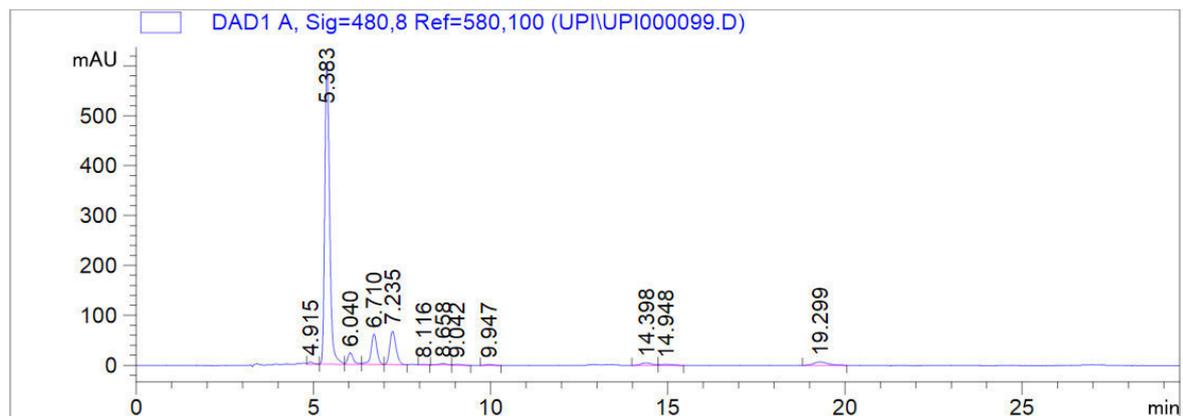


Fig. 3. HPLC chromatogram of culturing liquid extract obtained after culturing *Ph. Rhodozyma* strain in brewery liquid waste

The experiments performed demonstrate the feasibility of using *P. rhodozyma* as a carotenoids producer which grows in the nutrient medium containing brewery resting yeast. Further research will be directed toward obtaining mutants of the initial strains, conducting screening of strains obtained during mutagenesis, optimizing composition of culture medium and culturing conditions in order to increase the yield of target products and improving a procedure for carotenoids extraction.

REFERENCES

1. Korotaeva, S. (2011). Problems of food coloring manufacturers. Marketing Research Academy environment industrial markets, int. source http://newchemistry.ru/letter.php?n_id=8212.
2. Dronina ,A.S. (2014). Recent decisions of the brewing industry waste disposal, Young scientist, no. 9, pp. 133-135.

PREPARATION OF NOVEL DERIVATIVES OF PECTINIC ACID FOR MICROENCAPSULATION

S. Ntakirutimana, D.A. Tolstykh, K.V. Kozhikhova

Supervisor: Professor, PhD. M.A. Mironov

Ural Federal University, Institute of Chemical Engineering

Russia, Yekaterinburg, Mira, 19

E-mail: samntakirutimana@gmail.com

**ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПЕКТИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ
МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ**

С. Нтакирутимана, Д.А. Толстых, К.В. Кожихова

Научный руководитель: д.х.н. М.А. Миронов

Уральский федеральный университет, Химико-технологический институт

Россия, Екатеринбург, ул. Мира 19

E-mail: samntakirutimana@gmail.com

***Аннотация.** На основе гидразида пектиновой кислоты получены химически-сшитые микрогели, обладающие высокой поверхностной активностью. Для синтеза производных пектина использовалась четырехкомпонентная конденсация Уги с участием алифатических альдегидов и изоцианидов. Строение полученных соединений установлено с помощью методов ЯМР и ИК спектроскопии. Микрогели пектина стабилизируют эмульсии масло-в-воде с участием различных органических веществ, таких как нефтепродукты, толуол, хлористый метилен, растительное масло. Механизм стабилизации основан на образовании слоя гелевых частиц на поверхности раздела фаз (эмульсии Пикеринга). На основе подобных эмульсий получены микрокапсулы путем отверждения геля с помощью ионов кальция или полимерных катионов.*

Both nanoparticles and microparticles have got potential application in the formulation of novel dispersed systems containing emulsified oil or water droplets. Food colloids commonly contain dispersed particles with sizes ranging from just a few nanometers to tens of micrometers [1]. In many of these systems the particles participate in the stabilization of the multiphase structure by providing a physical barrier to emulsion droplet coalescence. This type of stabilization is commonly called 'Pickering stabilization' after the pioneering work of Pickering more than a century ago [2]. Hydrophilic microgels can be defined as the swollen particles within the generally accepted colloidal range of 100 nm to 1 μ m, which can absorb and retain large amounts of water. The great water content in a hydrogel and ability for architecture control via cross-link density determine the unique properties of this material; such as good biocompatibility and controlled transfer of various compounds in and out of the gel. Polysaccharide-based microgels have also attracted a great deal of interest in many biomedical applications, because they have all the properties of synthetic polymers as well as being renewable, biodegradable and easily available from commercial sources in industrial scale. Different capsules are formulating based on naturally polysaccharides such as cellulose, pectin, chitin, starch, arginate etc. Pectins are heteropolymers of primarily D-galacturonic acid (AGA) and galacturonic acid methyl ester residues that are

widely encountered in plants. The major categorization of pectins is based on their methylesterification characteristics which can alter their functional properties. When the degree of methylation (DM) in pectin molecules is higher than 50%, they are usually named as high methoxylpectins (HMP) which form gels after heating in concentrated sugar solutions ($>55\%$) and $\text{pH} < 3.5$ [3]. Pectins with a lower extent of methylesters are named as low methoxylpectins (LMP). LMP products gel in the presence of calcium ions and polyions in which case, a high concentration of sugars is not necessary; therefore the applicability can be extended to a wider range of food products such as low-calorie or diabetic food applications. The objective of this research was to explore a novel method for plant oils encapsulation using derivatives of pectin. Pectin matrix has got application in microencapsulation of essential oils. Essential oils are natural aromatic hydrophobic products obtained from plants. They are more useful as perfumes, medicines, in food and the flavoring industry. Encapsulation of lipophilic compounds requires the preparation of emulsions, usually oil in water emulsions, which should be stable during the entire encapsulation process. Pectin and its derivatives is a polymer which is able to produce stable emulsions at low concentrations [4].

In our work we have used stepwise formation of microcapsules as follows: (1) modification of starting pectins via chemical cross link by Ugi reaction, (2) creation of emulsion, (3) interaction of emulsion with calcium ion or hexamethylguanidine chloride. This technique is based on the Ugi four-component reaction (aldehyde, pectin hydrazide, isonitrile and carboxylic acid) and it was carried out in presence or absence of hexamethylene guanidine chloride with cetylpyridine chloride as interfacial catalyst. In our initial work the low methoxyl pectin and pectinic acid have been selected as a starting material for microgels synthesis [5]. In this work we have used pectin hydrazide as a starting reagent due to the presence of carboxy and amino groups in its structure (Fig.1).

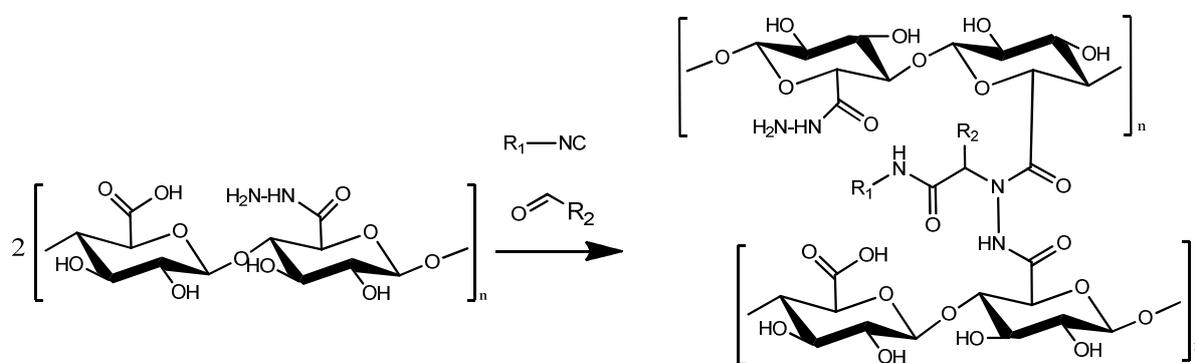


Fig. 1. Ugi reaction with pectin hydrazide

Various aldehydes (formaldehyde, isobutyraldehyde, cyclohexanecarboxaldehyde) and isonitrile (3-picolyl isonitrile, cyclohexaneisonitrile, 5-isocyanomethyl-benzo [1,3] dioxole and 3-pyrrolidine-1-yl propioisonitrile) were used in Ugi reaction and degree of substitution was evaluated using NMR spectra. The size of microcapsules was measured with dynamic light scattering technique (DLS). NMR spectra with satisfied results were obtained for the preparation of microgel samples. This work is also focused on the formation of the polysaccharide interfacial films from colloidal suspensions of polysaccharide microgels. A low degree of esterification favors the strong interaction between polymer chains and makes possible agglomeration of pectin

in diluted solutions. In this work a stable oil-in-water emulsion was created on the basis of Ugi reaction products. Various solvents were used as follow: heptane, crude oil, benzene, toluene, chloroform; between them toluene was selected as a model solvent. The drop test indicated that oil-in-water (o/w) emulsions were obtained in all cases. The targeted emulsion for practical applications was created using soy oil. Then, the emulsion was interacted with different volume of hexamethylene guanidine chloride polymer in order to find out the optimal ratio to produce microcapsules. Typical procedure for obtaining of microgel with low degree of substitution includes following steps: 20 ml of pectin hydrazide solution (2.65%) was diluted ten times and after 20 minutes 35 μ l of 3-picolyl isonitrile, and then, after 20 minutes 135 μ l of isobutyraldehyde were added. The solution was titrated with diluted HCl in order to achieve optimal pH (6-5) for the reaction. After one day concentrated acid was added until we got pH around 3 for isonitrile hydrolysis. Using acetone the precipitate was isolated and dried to dryness. Typical procedure for obtaining of microcapsules includes the following steps: 100ml of diluted pectin derivative solution was titrated with 5ml of hexamethyleneguanidine chloride solution. The colloidal solution obtained was mixed with 50 ml of toluene with shaking and mixing with magnetic stirrer. Again the mixture was titrated with the same polymer until precipitated was formed which indicate the formation of envelope around droplets.

Microgels on basis of pectin hydrazide obtained via the Ugi reaction were used as model compounds for evaluation of the oil in water emulsions stabilization with colloidal particles. As a result the stable microcapsules with average diameter in the range 25-30 μ m have been obtained. We have succeeded in obtaining of stable emulsions with these microgels as the Pickering-type emulsifiers at concentrations in the range of 0.5-1.5 g/L. Emulsions were solidified with addition of hexamethylene guanidine chloride or calcium ions to produce the stable microcapsules. This approach opens the way to rational design of microcapsules on the basis of natural polysaccharides.

REFERENCES

1. Dickinson, E. (2009) Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, pp.1473–1482.
2. Pickering, S.U. (1907) Emulsions. *Journal of the Chemical Society*, V. 91, pp. 2001–2021.
3. Iglesias, M.T., Lozano, J.E. (2004) Extraction and characterization of sunflower pectin, *Journal of Food Engineering*, V.62, pp. 215–223.
4. Gharsallaoui, A., Saurel, R., Chambin, O., Cases, E., Voilley, A. and Cayot, P. (2010) Utilization of pectin coating to enhance spray dry stability of pea protein stabilized oil in water emulsion. *Food Chemistry*, V. 122, pp. 447–454.
5. Mironov, M.A., Shulepov, I.D., Ponomarev, V.S., Bakulev, V.A. (2013) Synthesis of polyampholyte microgels from colloidal salts of pectinic acid and their application as pH-responsive emulsifiers, *Colloid Polymer Sci.*, V. 291, pp. 1683–1691.

**РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ
ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН ГИДРОХЛОРИДА**

О.С. Очиров, С.А. Стельмах

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Байкальский институт
природопользования СО РАН, Россия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6, 670047

E-mail: Olegoch@rambler.ru

**WOUND-HEALING EFFECT HYDROGEL BASED ON POLYHEXAMETHYLENEGUANIDINE
HYDROCHLORIDE**

O.S. Ochirov, S.A. Stelmakh

Baikal Institute of Nature Management

Siberian branch of the Russian Academy of science, Russia, Ulan-Ude, Sakhyanovoy str., 6, 670047

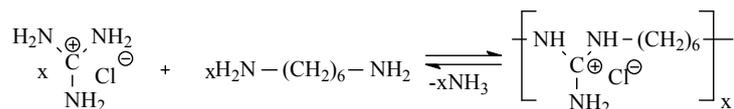
E-mail: Olegoch@rambler.ru

***Abstract.** The article describes the use of a hydrogel based on polyhexamethylene guanidine hydrochloride as a wound healing agent. Hydrogels were obtained by crosslinking amino end groups of the polymer with aldehydes, which led to the formation of highly swellable hydrogels based on polyhexamethylene guanidine hydrochloride having high antimicrobial activity. Evaluation of wound healing was performed by linear modeling skin wound on laboratory animals.*

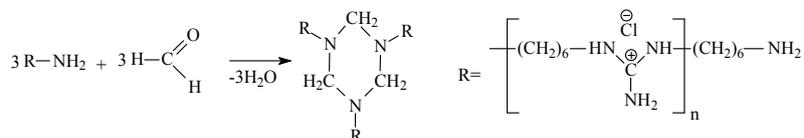
При лечении открытых ран, послеоперационных полостей и ожогов существует вероятность заражения поврежденной поверхности кожных покровов микроорганизмами вызывающими различные инфекционные заболевания и приводящие к серьезным осложнениям, не исключая летальный исход. Актуальным решением этой проблемы будет являться разработка биоцидных материалов, способных препятствовать заражению и обеспечивать длительную защиту от действия патогенной микрофлоры, а также способствовать быстрому заживлению пораженных участков.

Перспективными материалами для лечения ран и ожогов могут быть полимерные гидрогели [1] с использованием их в качестве матриц-носителей лекарственных средств, при этом гелеобразующие полимеры должны обладать биосовместимостью и способностью образовывать комплексные соединения. К таким полимерам можно отнести полиакриловую кислоту и поливиниловый спирт, однако, эти гелеобразующие полимеры не обладают свойствами биоразложения и наличием собственной антимикробной активности, поэтому использование этих полимеров ограничивается только в качестве носителя. К классу полимеров обладающих всеми выше перечисленными свойствами можно отнести полигуанидины используемые в качестве активных агентов многих дезинфекционных средств [2, 3], что в совокупности с малотоксичностью, а также простотой синтеза делает их перспективными материалами не только для применения в качестве защитного средства предотвращающего проникновение микроорганизмов в пораженные участки кожного покрова, но для заживления раны в целом.

Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГгх) был синтезирован путем поликонденсации в расплаве гексаметилендиамина и гуанидин гидрохлорида по схеме:



Синтез гидрогелей на основе ПГМГгх описан в работе [4]:



Полученный гидрогель был исследован методами ИК-спектроскопии и ТГ/ДСК анализа. Так при сравнении спектров ПГМГгх и гидрогеля (рис. 1), видно, что в области поглощения аминогрупп при 3250 см^{-1} у гидрогеля наблюдается уменьшение интенсивности полос, что объясняется расходом концевых аминогрупп полимера, взаимодействующих с формальдегидом. За счет образования метиленового мостика, связывающего концевые аминогруппы, атомы азота, проявляющие отрицательный индуктивный эффект, усиливают полярность $-\text{CH}_2-$ группы, блокируя ножничные деформационные колебания (1460 см^{-1}), при этом провоцируя усиление веерных и крутильных в диапазоне от 1350 см^{-1} до 1270 см^{-1} .

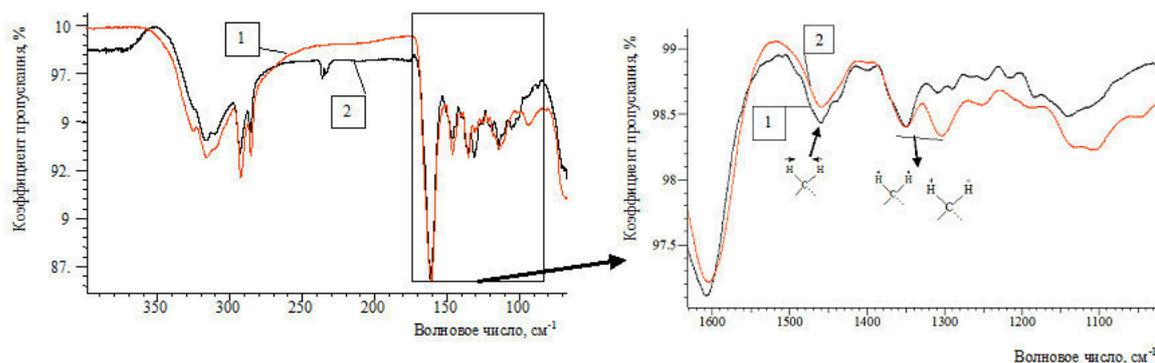


Рис. 1. ИК Спектры ПГМГгх (1), гидрогеля (2).

ТГ/ДСК анализ гидрогеля показал, что потеря массы начинается при температуре 120°C и сопровождается характерным экзотермическим эффектом при $225\text{--}229^\circ\text{C}$. Вероятно, в этом температурном интервале происходит отщепление метиленовой группы, заключенной между двумя атомами азота. Остальные эффекты связаны с разложением ПГМГгх [5].

Ранозаживляющее действие гидрогелей проводили путем сравнения с широко применяемым препаратом «Левомеколь», в условиях моделирования линейной кожной раны на крысах.

На фоне использования гидрогеля у всех животных опытной группы наблюдалась регенерация эпителия по краям раневого дефекта, а также хорошо развитая грануляционная ткань с большим количеством фибробластов, гистиоцитов и мононуклеарных лейкоцитов. В грануляционной ткани были видны ориентированные в горизонтальном направлении небольшие тяжи фибробластов и нити коллагена, сформированные в пучки, вертикальные капилляры, вокруг которых наблюдались скопления макрофагальных элементов, практически полностью замещающие полиморфно-ядерные

лейкоциты. В отличие от контроля отсутствовали некротические изменения, отек и воспалительная инфильтрация в прилежащих к раневому дефекту тканях.

Результаты тензометрических исследований, представленные в таблице, свидетельствуют, что у животных первой опытной группы прочность рубца была на 65% выше показателя крыс контрольной группы. При этом препарат сравнения повышал данный показатель по отношению к контролю лишь на 48%.

Таблица 1

Влияние гидрогеля на основе ПГМГгх и формальдегида и левомеколя на прочность рубцовой ткани линейной раны у белых крыс

| Группы животных | Прочность рубцовой ткани, кг |
|-----------------------------|------------------------------|
| Контрольная, n=8 | 0,25±0,02 |
| Опытная 1 (гидрогель), n=8 | 0,41±0,03* |
| Опытная 2 (левомеколь), n=8 | 0,37±0,02* |

Примечание: * – различия статистически значимы при $P \leq 0,05$ между данными животных контрольной и опытной групп; n – количество животных в группе.

Таким образом, на модели линейной кожной раны выявлено выраженное ранозаживляющее действие гидрогеля на основе ПГМГгх и формальдегида, о чем свидетельствуют результаты ранотензометрии и данные патоморфологических исследований, которые показали более высокую степень созревания грануляционной ткани и прочность рубца. Следует отметить, что гидрогель на основе ПГМГгх исследованный в данной работе не содержал в себе активные антибиотические и антисептические соединения, поэтому предполагаемый препарат на основе ПГМГгх можно рассматривать как самостоятельное средство. При этом, наличие комплексообразующих свойств у исходного полимера позволит усовершенствовать состав препарата путем создания комплексов с лекарственными средствами, что положительно скажется на его эффективности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shi L., Yang N., Zhang H., Chen L., Tao L., Wei Y., Liu H., Luo Y. A novel poly(glutamic acid)/silk-sericin hydrogel for wound dressing: Synthesis, characterization and biological evaluation // Materials Science and Engineering C. – 2015. – V. 48. – P. 533-540.
2. Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. Антимикробные полимеры. – Спб.:Гиппократ, 1993. – 264 с.
3. Ефимов К.М., Гембицкий П.А., Снежко А.Г. Полигуанидины - класс малотоксичных дезсредств пролонгированного действия // Дезинфекционное дело. – 2000. – № 4. – С. 32.
4. Очиров О.С., Могнонов Д.М., Стельмах С.А. Полимерные гидрогели на основе полигексаметиленгуанидин гидрохлорида и формальдегида // ЖПХ. – 2015. – Т. 88. Вып. 2. – С. 332-335.
5. Базарон Л.У., Стельмах С.А. Молекулярно-массовые характеристики полигексаметиленгуанидин гидрохлорида // ЖПХ. – 2008. – Т. 81. Вып. 11. – С. 1906-1910.

**ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕАКЦИИ ШТАУДИНГЕРА**

А.С. Павлова, Б.П. Челобанов, Д.А. Стеценко

Научный руководитель: к.х.н. Д.А. Стеценко

Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины СО РАН,

Россия, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 8, 630090

E-mail: annivany@gmail.com

SYNTHESIS OF NEW NUCLEIC ACID ANALOGUES VIA STAUDINGER REACTION

A.S. Pavlova, B.P. Chelobanov, D.A. Stetsenko

Scientific Supervisor: Dr. D.A. Stetsenko

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, 8 Lavrentiev Avenue, Novosibirsk

630090, Russia

E-mail: annivany@gmail.com

***Abstract.** Chemically modified oligonucleotides have shown promise as RNA-targeting therapeutics for such diseases as cancer, genetic disorders and viral or bacterial infections. The main obstacle on the way into clinic for such derivatives is their insufficient cell uptake in cell culture in the absence of a transfection agent and, often, poor bioavailability and stability in vivo. Synthetic nucleic acid analogues such as peptide nucleic acids (PNA) or phosphordiamidate morpholino oligonucleotides (PMO) demonstrate high resistance to enzymatic digestion. The compounds have been employed successfully as a lead for designing oligonucleotide derivatives and conjugates with improved cell uptake. However, PNA or PMO have a backbone, which is considerably different to the natural sugar and phosphate backbone of nucleic acids and thus require special methods for their chemical synthesis. We have recently described a new type of nucleic acid analogue, which substitute a charge-neutral phosphoryl guanidino group for a negatively charged phosphodiester group. The compounds possess good affinity to complementary DNA or RNA and exceptional stability in biological media.*

In contrast to PNA or PMO, phosphoryl guanidine oligonucleotides (PGO) incorporate natural sugars such as ribose or deoxyribose and can be conveniently prepared via standard β -cyanoethyl phosphoramidite chemistry by substituting Staudinger reaction for conventional iodine oxidation. We would like to report herein our recent results on automated solid-phase synthesis of phosphoryl guanidine oligonucleotides (PGO) with either DNA, 2'-fluoro-DNA or 2'-O-methyl RNA backbone, their purification by reverse-phased HPLC and analysis by mass spectroscopy as well as preliminary data by laser fluorescent confocal microscopy on their uptake into mammalian cells in the absence of transfection agents.

Производные олигонуклеотидов рассматриваются в настоящее время как перспективные РНК-направленные терапевтические средства для лечения таких заболеваний, как онкологические и генетические болезни, инфекции, вызываемые вирусами или бактериями. Однако, широкому использованию олигонуклеотидов как лекарственных препаратов препятствует их слабое проникновение в клетки *in vitro* в отсутствие трансфицирующих агентов и недостаточная биодоступность и устойчивость

in vivo. Синтетические аналоги нуклеиновых кислот, такие как пептидные нуклеиновые кислоты (PNA) и фосфордиамидные морфолиновые олигонуклеотиды (PMO), показали высокую устойчивость к ферментативному расщеплению. Данные соединения были использованы для разработки производных олигонуклеотидов и их конъюгатов с улучшенным проникновением в клетки. В то же время, как PNA, так и PMO обладают остовом, значительно отличающимся по структуре от сахарофосфатного остова природных нуклеиновых кислот, и требуют особых методов химического синтеза.

Недавно в ИХБФМ СО РАН были получены представители нового класса аналогов олигонуклеотидов, содержащих вместо природных отрицательно заряженных фосфатных групп незаряженные фосфорилгуанидиновые группы [1]. Было показано, что фосфорилгуанидиновые олигонуклеотиды (ФГО) обладают подходящими свойствами для потенциального применения в качестве терапевтических агентов, а именно, высоким сродством к комплементарным последовательностям ДНК и РНК, а также высокой устойчивостью к расщеплению ферментами. В отличие от PNA или PMO, ФГО содержат остатки природных углеводов, например, 2'-дезоксирибозы или 2'-О-метилрибозы, и могут быть получены путем твердофазного синтеза по обычной фосфитамидной схеме с помощью автоматического синтезатора ДНК/РНК с заменой стадии обычного окисления йодом реакцией Штаудингера между иммобилизованным на полимерной подложке триалкилфосфитом и соответствующим азидом. В настоящем докладе мы сообщаем о получении новых производных олиго-2'-О-метилрибонуклеотидов, содержащих фосфорилфосфазеновые ([трис(диалкиламино)фосфоранилиден]фосфорамидные) группы (рис. 1, а) [2].

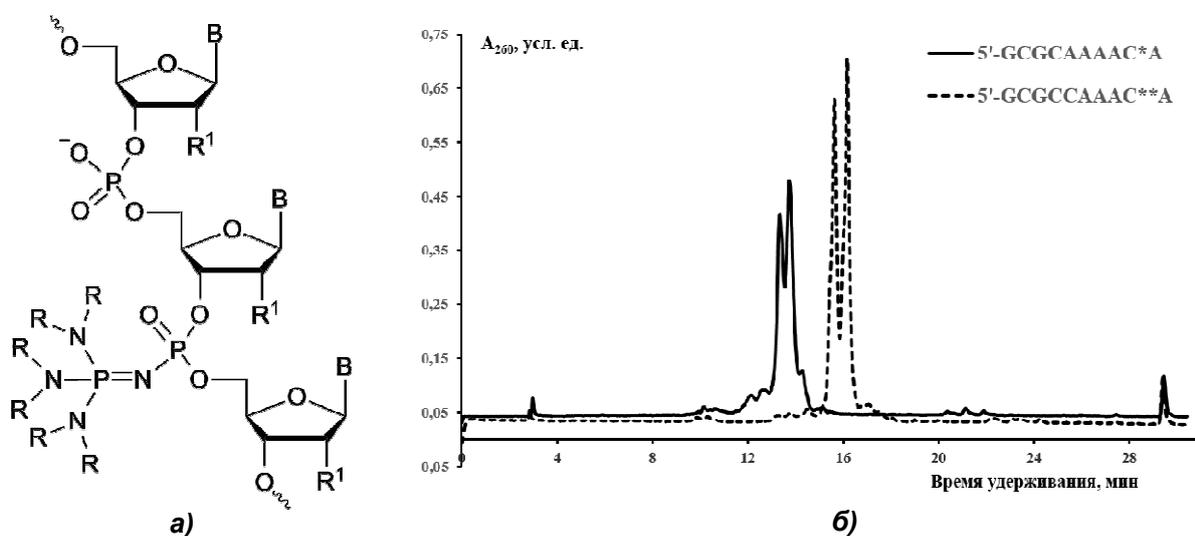


Рис. 1. а) Структура олигонуклеотида с фосфорилфосфазеновой группой, $R = Me$, $-(CH_2)_4-$, $R^1 = H$, OMe . б) Профили элюции офВЭЖХ олиго-2'-О-метилрибонуклеотидов с фосфорилфосфазеновыми группами, (*) $R = Me$, (**) $R = -(CH_2)_4-$

Для получения олигонуклеотидов с фосфорилфосфазеновыми группами была использована реакция Штаудингера между иммобилизованным на подложке динуклеозидфосфитом и солью азидотрис(диалкиламино)фосфония. Введение фосфазеновой группы в состав олигонуклеотида приводит к появлению диастереомеров, которые могут быть разделены при помощи ОФ ВЭЖХ (рис. 1, б).

Показано, что олигонуклеотиды с одной или двумя фосфорилфосфазеновыми группами сохраняют способность образовывать стабильные комплементарные комплексы с ДНК или РНК. Наличие даже одной фосфорилфосфазеновой группы на 3'-конце олиго-2'-О-метилрибонуклеотида повышает его устойчивость к действию 3'-экзонуклеаз, что является значимым для использования таких производных олигонуклеотидов в биологических средах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-15-00121

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Купрюшкин М.С., Пышный Д.В., Стеценко Д.А. Фосфорилгуанидины. Новый класс аналогов нуклеиновых кислот. // Acta Naturae. – 2014. – Т. 6. – № 4(23). – С. 123–125.
2. Стеценко Д.А., Челобанов Б.П., Алухтина В.С., Купрюшкин М.С. // Заявка на патент РФ № 2014134383 от 22.08.2014.

**АНТИБИОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БАКТЕРИИ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

Е.С. Пальчевская, Т.А. Петрова

Научный руководитель: доцент, к.м.н. М.В. Чубик

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: esp3@tpu.ru

**ANTIBIOTIC ACTION OF CULTURE LIQUID OF BACTERIA PSEUDOMONAS
AERUGINOSA**

Y.S. Palchevskaya, T.A. Petrova

Scientific Supervisor: Docent, PhD M.V. Chubic

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: esp3@tpu.ru

***Abstract.** The paper examined the antimicrobial properties of Pseudomonas aeruginosa strain 67. These properties are due to the ability of these bacteria to produce complex of compounds with high biological activity. Complex aromatics phenazine series plays an important role in it. Phenazines represent a group of heterocyclic nitrogen-containing compounds showing a broad spectrum of antibiotic properties. Pseudomonas aeruginosa produce phenazine compounds as the secondary metabolites. As a result of the study was to determine the sensitivity group of test microorganisms to a complex phenazine compounds produced by Pseudomonas aeruginosa strain 67.*

Возможность использования биологических методов защиты растений от фитопатогенных грибов и бактерий исследуется давно. Применение микробиологических препаратов позволит реализовать почвенно-климатический потенциал агроландшафта, а также биологический потенциал сельскохозяйственных растений. Среди преимуществ биопрепаратов можно также отметить высокую длительность действия. Они не накапливаются в растениях и не вызывают привыкания у насекомых.

Филосфера представляет собой сложную экологическую нишу, заселенную полезными, вредными и нейтральными для растений микроорганизмами. Особый интерес вызывают ростостимулирующие бактерии (plant growth-promoting bacteria - PGPB), среди которых наиболее изучена группа свободноживущих и ассоциативных ростостимулирующих ризобактерий (plant growth-promoting rhizobacteria - PGPR). Одними из представителей PGPR являются бактерии рода Pseudomonas, продуцирующие антибиотики ароматической природы, с помощью которых подавляется развитие патогенных микроорганизмов. В число продуцируемых соединений входят феназины, проявляющие активность по отношению к грамотрицательным и грамположительным бактериям, а также грибам [1, 2].

Цель работы: изучить биологическое действие культуральной жидкости бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, штамм 67.

Феназины являются окрашенными гетероциклическими азотсодержащими соединениями, которые продуцируются исключительно бактериями. Молекула феназина может содержать разные функциональные группы в качестве заместителей, что придает ей различные свойства. Кроме того, феназины обладают ростостимулирующим действием [3, 4].

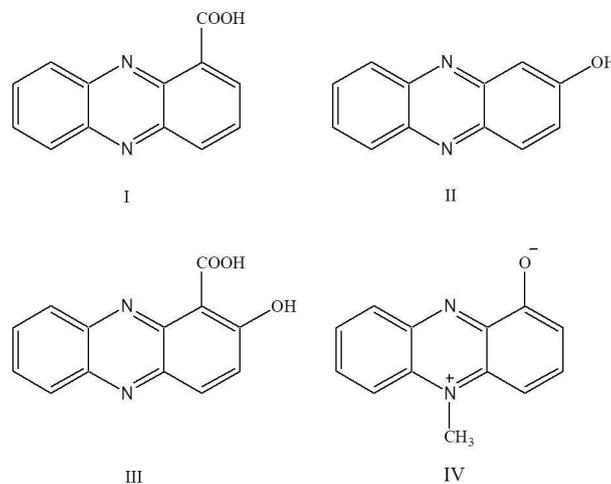


Рис. 1. Структуры некоторых производных феназина

I - феназин-1-карбоновая кислота; II - 2-гидроксифеназин; III - 2-гидроксифеназин-1-карбоновая кислота; IV - пиоцианин [5]

Получение культуральной жидкости микроорганизмов осуществляли путём культивирования бактерии в течение 5 суток, с аэрацией, при температуре 37 °С, на среде Кинг Б с добавлением соли нитрата аммония. Затем половина объема культуральной жидкости была использована для определения ее антибиотического действия по отношению к ряду тест-организмов методом последовательных разведений. Вторая половина объема культуральной жидкости подвергалась экстракции для определения содержания антибиотиков феназинового ряда. Экстракцию производных феназина осуществляли по оригинальной методике, разработанной в ходе исследований. Очистка и разделение феназинов осуществлялись с использованием тонкослойной и колоночной хроматографии.

С использованием спектрофотометрии в ультрафиолетовой области спектра, спектроскопии ядерного магнитного резонанса и измерением температур плавления очищенные экстракты феназинов анализировали на качественный и количественный состав.

В результате исследования были получены следующие производные феназина от бактерии *P. aeruginosa*, штамм 67: феназин-1-карбоновая кислота, 2-гидроксифеназин, 2-гидроксифеназин-1-карбоновая кислота, пиоцианин. Мажорным соединением является феназин-1-карбоновая кислота, исходя из концентрации которой в культуральной жидкости, определяли соотношения разведений для определения антимикробной активности.

Изучено биологическое действие культуральной жидкости бактерии *P. aeruginosa*, штамм 67 и феназинов на ряд тест-организмов: *E.coli*, *S.aureus*, *B.subtilis*, *C. albicans*, *Saccharomyces sp*. Выявлены бактерицидная и бактериостатическая концентрации феназин-1-карбоновой кислоты по отношению к тест-организмам. Результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Определение минимальной подавляющей концентрации феназин-1-карбоновой кислоты

| Тест-организм | Концентрация феназин-1-карбоновой кислоты, мг/л | | | | | | | |
|--------------------------|---|-----|----|----|----|---|---|---|
| | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 |
| Рост тест-организма | | | | | | | | |
| <i>C. albicans</i> | - | - | - | - | + | + | + | + |
| <i>B.subtilis</i> | - | - | - | + | + | + | + | + |
| <i>S. aureus</i> | - | - | - | - | - | + | + | + |
| <i>Saccharomyces sp.</i> | - | - | - | - | - | + | + | + |
| <i>E. coli</i> | - | - | - | - | + | + | + | + |

«+»- присутствует рост, «-»- отсутствует рост.

Установлено, что культуральная жидкость *P.aeruginosa*, штамм 67 проявляет антибиотическую активность по отношению ко всем тест-культурам. Доказано, что бактерицидное действие культуральной жидкости обусловлено присутствием в ней антибиотиков феназинового ряда. После экстракции феназиновых соединений антибиотическое действие культуральной жидкости отсутствует. Чистые антибиотики феназинового ряда проявляют несколько меньшую антибиотическую активность по отношению к тест-организмам, из чего можно сделать вывод, что антибактериальное действие культуральной жидкости *P. aeruginosa*, штамм 67 также обусловлено наличием других биологических соединений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hol W.H., Bezemer T.M., Biere A. (2013). Getting the ecology into interactions between plants and the plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Frontiers in Plant Science*, no. 4, pp. 81-90.
2. Pathma J., Rahul G.R., Kennedy R. Kamaraj, Subashri R., Sakthivel N. (2011). Secondary metabolite production by bacterial antagonists. *Journal of Biological Control*, no. 25, pp. 165–181.
3. Моргун В.В., Коць С.Я., Кириченко Е.В. Ростстимулирующие ризобактерии и их практическое применение // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – № 41. – С. 187–207.
4. Compant S., Duffy B., Nowak J., Clement C., Barka E.A. (2005). Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, no. 71, pp. 4951–4959.
5. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов: пер. с англ. - М.: Мир, 1986. – 419 с.

**ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ИНФИЛЬТРАТА РАЗЛИЧНЫХ
МОРФОЛОГИЧЕСКИ-ОБОСОБЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Д.Н. Паутова¹, Л.А. Таширева², М.В. Завьялова²

Научный руководитель: к.б.н. Е.В. Денисов

¹Томский государственный университет, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

²Томский НИИ онкологии, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050

Email: daridara@mail.ru

**THE CHARACTERIZATION OF INFLAMMATORY INFILTRATE OF MORPHOLOGICALLY-
DISTINCT TUMOR POPULATIONS IN BREAST CANCER**

D.N. Pautova¹, L.A. Tashireva², M.V. Zavyalova²

Scientific supervisor: E.V. Denisov, PhD

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina Str. 36, 634050

²Tomsk Cancer Research Institute, Russia, Tomsk, Kooperativny Str. 5, 634050

Email: daridara@mail.ru

***Abstract.** In this study, we aimed to study the distribution of macrophages (CD68+ cells) in the tumor microenvironment of morphologically-distinct tumor populations of breast cancer: tubular, alveolar, solid, trabecular structures, and discrete groups of tumor cells. In addition, we analyzed the expression of different genes responsible for the monocyte recruitment and the regulation of macrophage polarization and function in these populations of tumor cells. Thirty eight patients with breast cancer were enrolled in this study. The analysis of macrophages was performed by immunohistochemical method, expression analysis – by microarray approach. We showed that intratumor morphological heterogeneity in breast cancer is not related to macrophage distribution. Macrophages were rarely detected in the microenvironment of morphologically-distinct tumor populations and more frequently observed in distant microenvironment. The expression of the studied genes was decreased in all structures excepting discrete groups of tumor cells, which demonstrated CCL2 overexpression, and tubular/solid structures with high expression of BCG (EMMPRIN) gene.*

Введение. Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность присуща многим злокачественным новообразованиям и вовлечена в опухолевую прогрессию и результативность лечения заболеваний [1; 2]. В опухолях молочной железы морфологическая гетерогенность представлена наличием пяти различных типов опухолевых структур: тубулярных, альвеолярных, трабекулярных, солидных структур и дискретных групп опухолевых клеток [3]. Разные типы морфологических структур отличаются друг от друга не только своей формой и количеством содержащихся в них опухолевых клеток, но также рядом генетических особенностей, что позволяет заключить об их принадлежности к различным клеточным популяциям опухоли молочной железы [4].

В настоящее время исследования механизмов формирования внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы (РМЖ) немногочисленны. Интересным на наш взгляд является

феномен возможного влияния клеток опухолевого микроокружения, в частности макрофагов, на формирование внутриопухолевой морфологической гетерогенности РМЖ. Ранее высказывались предположения о возможной роли опухолевого микроокружения в развитии внутриопухолевой гетерогенности в целом; однако экспериментальных работ проведено не было. Таким образом, настоящее исследование было направлено на изучение закономерностей распределения макрофагов в микроокружении различных морфологических популяций опухолевых клеток РМЖ.

Материалы и методы. В исследование было включено 38 больных РМЖ ($T_{1-4}N_{0-3}M_0$, возраст от 35 до 80 лет), в опухолевой ткани (фиксированные образцы) которых с помощью иммуногистохимического анализа было проведено типирование макрофагов (CD68+) в микроокружении различных морфологических структур. Кроме того, было проведено полнотранскриптомное профилирование (HUMAN G3 v2 Kit 8x60k, Agilent) различных морфологических структур с целью идентификации экспрессирующихся в опухолевых клетках маркеров рекрутирования моноцитов, их поляризации и регуляции макрофагальных функций.

Результаты. CD68+ макрофаги встречались крайне редко вблизи различных морфологических структур и чаще выявлялись в микроокружении вдали опухолевых элементов ($p < 0.05$). В частности, выраженность макрофагальной популяции в микроокружении альвеолярных структур составила $0,3 \pm 0,5$, трабекулярных – $0,5 \pm 0,6$, тубулярных – $0,2 \pm 0,4$, солидных – $0,6 \pm 0,9$, дискретных групп клеток – $0,6 \pm 0,9$, тогда как в строме, отдаленной от структур – $1,3 \pm 1,1$. В случаях с метастатическим поражением лимфатических узлов наблюдалась более слабая инфильтрация CD68+ макрофагами микроокружения трабекулярных структур и дискретных групп клеток и на отдалении от опухолевых структур. Инфильтрация CD68+ макрофагами вокруг альвеолярных, тубулярных и солидных структур не была связана с лимфогенным метастазированием. В группе больных без предоперационного лечения выполнялось исследование взаимосвязи гематогенного метастазирования с составом воспалительного инфильтрата вблизи морфологических структур. Оказалось, что при наличии гематогенных метастазов определялась менее интенсивная инфильтрация CD68+ макрофагами, располагающимися вокруг дискретных групп опухолевых клеток и на отдалении от структур, в сравнении со случаями, когда отдаленные метастазы отсутствовали.

Оценка экспрессии генов *CSF-1*, *CCL2*, *CCL5*, *IFNG*, *IL12*, *IL23*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *IL13*, *ENAH* (Mena), *CSF2* (GM-CSF) и *BCG* (EMMPRIN), вовлеченных в контроль поляризации моноцитов и регуляцию макрофагального фенотипа со стороны опухолевых клеток, в различных морфологических структурах опухолей молочной железы показала следующие закономерности (таблица 1). Экспрессия генов (*CSF-1*, *CCL2*, *CCL5*), связанных с рекрутированием моноцитов в опухоль, снижена во всех структурах по сравнению с нормальным эпителием молочной железы. Исключение составляет ген *CCL2*, экспрессия которого повышена в 3 раза в дискретных группах опухолевых клеток по сравнению с нормой. Экспрессия генов, вовлеченных в дифференцировку моноцитов в макрофаги 1-го и 2-го типов, также была снижена или повышена незначительно. Не было показано высокой экспрессии генов *ENAH* (Mena) и *CSF2* (GM-CSF) в разных структурах. Однако интересным было наблюдение высокой активности гена *BCG* (EMMPRIN) в тубулярных и солидных структурах.

Таблица 1

Экспрессия генов, вовлеченных в опухоль-макрофагальные взаимодействия, в различных морфологически-обособленных опухолевых популяциях РМЖ

| Гены | Функции | Морфологические структуры | | | | |
|----------------------|---|---------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | | TS | AS | SS | TrS | DG |
| <i>CSF-1</i> | рекрутирование моноцитов в опухоль | -2.19 | -1.56 | -2.38 | -1.03 | -2.19 |
| <i>CCL2</i> | | 0.42 | -0.55 | -0.32 | -3.35 | 3.54 |
| <i>CCL5</i> | | -3.77 | -3.83 | -3.76 | -3.64 | -2.22 |
| <i>IFNG</i> | M1 поляризация | 0.19 | - | - | 0.46 | - |
| <i>IL12</i> | | - | - | - | - | - |
| <i>IL23</i> | | - | - | - | - | - |
| <i>IL4</i> | M2 поляризация | - | -0.41 | -0.41 | 0.35 | -0.23 |
| <i>IL6</i> | | -0.55 | -0.36 | -0.91 | - | - |
| <i>IL10</i> | | - | -0.59 | -0.49 | - | - |
| <i>IL13</i> | | 0.21 | - | -0.31 | - | -0.32 |
| <i>ENAH</i> (Mena) | трансэндотелиальная миграция | - | -0.42 | - | -1.44 | - |
| <i>CSF2</i> (GM-CSF) | ингибирование проопухолевой активности макрофагов, увеличение презентации антигенов | 0.57 | -0.18 | 0.17 | -0.25 | - |
| <i>BCG</i> (EMMPRIN) | индукция секреции моноцитами MMP-9 и VEGF и ангиогенеза | 2.15 | 0.83 | 1.29 | 0.54 | 0.95 |

Примечания: TS, тубулярные структуры; AS, альвеолярные структуры; SS, солидные структуры; TrS, трабекулярные структуры; DG, дискретные группы опухолевых клеток

Таким образом, внутриопухолевая морфологическая гетерогенность РМЖ, вероятно, не связана с распределением макрофагов в опухолевом микроокружении. Макрофаги встречались крайне редко вблизи различных морфологических структур и чаще выявлялись в микроокружении вдали опухолевых элементов. Экспрессия основных генов, вовлеченных в рекрутирование и регуляцию макрофагального фенотипа, была снижена во всех структурах, за исключением дискретных групп опухолевых клеток, демонстрировавших высокую активность *CCL2*, тубулярных и солидных структур - *BCG* (EMMPRIN).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gerashchenko T.S., Denisov E.V., Litviakov N.V., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V., Tsyganov M.M., Perelmutter V.M., Cherdyntseva N.V. (2013) Intratumor heterogeneity: nature and biological significance. *Biochemistry (Mosc)*, Vol. 78, no. 11, pp. 1201-1215.
- Boros M., Marian C., Moldovan C., Stolnicu S. (2012) Morphological heterogeneity of the simultaneous ipsilateral invasive tumor foci in breast carcinoma: a retrospective study of 418 cases of carcinomas. *Pathol Res Pract.*, Vol. 208, no. 10, pp. 604-609.
- Завьялова М.В., Перельмутер В.М., Слонимская Е.М., и др. Сопряженность лимфогенного метастазирования и гистологического строения инфильтративного компонента протокового рака молочной железы // *Сибирский онкологический журнал.* – 2006. – Т. 1 – С. 32-35.
- Denisov E.V., Geraschenko T.S., Zavyalova M.V., Litviakov N.V., Tsyganov M.M., Kaigorodova E.V., Slonimskaya E.M., Kzhyshkowska J., Cherdyntseva N.V., Perelmutter V.M. (2015) Invasive and drug resistant expression profile of different morphological structures of breast tumors. *Neoplasma*, Vol. 62, no. 3, pp. 405-411.

INVESTIGATIONS ON THE VITAMIN E CAUSED RADIATION PROTECTION OF HEALTHY CELLS

Betina Pajaziti¹, Katrin Borrmann², Burkhard Greve³, Uwe Haverkamp³

Scientific Supervisors: Prof. Lothar Heinrich^{4,5}

¹University of Muenster, Institute of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, 48149 Muenster

²University of Muenster, Institute of Biochemistry, 48149 Muenster, Germany

³University of Muenster, UKM, Clinic for Radiotherapy and Radiooncology, 48149 Muenster

⁴National Research Tomsk State University, Dep. Physical and Colloid Chemistry, 634050 Tomsk, Russia

⁵marcotech oHG, 48149 Muenster, Germany

betina.pajaziti@uni-muenster.de

ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИАЦИОННОЙ ЗАЩИТЫ ЗДОРОВЫХ КЛЕТОК, ВЫЗВАННОЙ ВИТАМИНОМ Е

Бетина Паяцити¹, Катрин Боррман, Буркгард Грeve³, Уве Гаверкамп³

Научный руководитель: профессор Лотар Хайнрих^{4,5}

¹Университет Мюнстера, Институт фармацевтической и медицинской химии, 48149 Мюнстер, Германия

²Университет Мюнстера, Институт биохимии, 48149 Мюнстер, Германия

³Университет Мюнстера, УКМ, клиника лучевой терапии и радиоонкологии, 48149 Мюнстер, Германия

⁴Национальный исследовательский Томский государственный университет, кафедра физической и коллоидной химии, 634050 Томск, Россия

⁵Макротех, 48149 Мюнстер, Германия

betina.pajaziti@uni-muenster.de

***Аннотация.** Довольно часто развитие рака можно предотвратить с помощью лучевой терапии с применением гамма- или протонного излучения. Кроме опухолевых клеток при радиотерапии страдают так же и здоровые ткани. Целью исследования является разработка систем доставки лекарственных средств при повреждениях кожи для применения в лучевой терапии. Антиоксиданты витамина Е обеспечивают высокий потенциал поглощения свободных радикалов, которые образуются под действием радиационной терапии. В данной работе изучались токсичность и радиопротекторный потенциал предлагаемых антиоксидантов *in vitro* с использованием линии человеческих клеток фибробластов и линии клеток рака молочной железы поло-жизельный гормонорецепторного MCF-7.*

More than 30% of cancer deaths can be prevented by radiotherapy [1] applying X- and gamma-ray or proton beam radiation [2]. Intraoperative Radiation Therapy (IORT) such as the external beam radiation therapy (EBRT), the adjuvant high dose radiation brachy therapy (HD-HDR) or the novel Intrabeam® Photon Radiosurgery System (PRS) represent radiation treatments using X- or gamma-rays [3, 4, 5]. Besides the damage of the tumor cells radiotherapies effectuate also impairments of the healthy tissue [6]. The ionizing rays destroy bio-macromolecules such as proteins, lipids, killing cells and break the double-stranded or the single-stranded chains of DNA and RNA [7]. Indirect interaction with in species within the cytoplasm and the extracellular medium creates reactive chemical species which in turn interact with critical macromolecules. Free radical hydrogen and hydroxyl molecules (reactive oxygen species = ROS), as well

as nitrogen oxide radicals (reactive nitrogen species = RNS) are marked by high cell toxicity [8, 9]. Prophylactic systemic administration of antioxidants is targeted to reduce the ROS and RNS, but the local antioxidant delivery to the radio-treated tissue promises enlarged protection against the radio-generated ROS.

The radio-protective efficacy of nanocontainer loaded antioxidative vitamin E components D- α -tocopherol (TP), D- γ -tocotrienol (TRF) and α -tocopheryl ethylene glycol 1000 succinate (TPGS) [10, 11, 12, 13] to the human fibroblast cell line HaCat and in the hormone receptor positive breast cancer cell line MCF 7 were investigated. The transport processes across the skin barrier *stratum corneum*, as well as within the connective tissue, are discussed and simulated on the base of simplified models [14]. The goal of these investigations is the development of drug delivery systems for wound and skin dressing applied in the radiation therapy.

The antioxidants of vitamin E provide a promising potential scavenging free radicals [13]. Therefore α -tocopherol (TP) and γ -tocotrienol rich fraction (Palm-TRF) were selected as liposome formulations prepared from cholesterol and phosphatidylcholine according the film method. The lipophilic antioxidants are incorporated within the bilayers of the liposomes which act as nanocontainers of about 200 nm (estimated by DLS) in aqueous PBS pH 7.4. Alternatively, the amphiphilic pharmaceutical approved excipient tocopheryl ethylene glycol 1000 succinate (TPGS) forms in PBS micelles of about 20 nm, if the critical micelle concentration of 0,02 wt% is exceeded.

The toxicity and the radioprotective potential of the proposed antioxidants were studied *in-vitro* using the human fibroblast cell line HaCat and in the hormone receptor positive breast cancer cell line MCF-7. According to literature, the radio-protective effects of γ -tocotrienol within TRF and TPGS to healthy cells such as HaCat cells should be higher than to tumor cells. The nanocontainers loaded with the different antioxidants were added to the cell cultures. The loaded liposomal nanocontainers access the cells via endocytosis. The cell cultures were irradiated with X-ray (2 Gy) using the electron beam accelerator (VARIAN trueBeam T02). The survival and proliferation of the two cell lines were determined by colony formation assays. Cell culture experiments were done at least three times (each in triplicate). Mean value and standard deviation were calculated. Significance was determined using tests according the student-t-distribution. With respect to drug delivery dressings, models of the permeation into skin and the penetration into connective tissue are discussed and simplified in order to simulate the time depending concentration profiles of the antioxidants.

D- α -tocopherol and the γ -tocotrienol containing Palm-TRF provide protective effects to HaCat cells against oxidative stress, respectively radiation generated ROS. Palm-TRF acts obviously more protective to HaCat cells than to MCF-7 cells. The micellar TRGS (concentrations of about 0,02 wt%) indicated cell toxic effects. Usual pharmaceutical concentration of TPGS of 10 μ mol/L provide a moderate radiation protection, but a slight damage of the ECM. The results of the comparative investigations will be presented and discussed with respect to the estimated oxygen radical absorbance capacities (ORAC) [15, 16] of the loaded nanocontainers. Penetration and permeation models and the results of simulations will be discussed.

The research has been partly supported by the Tomsk State University Competitiveness Improvement Program

REFERENCES

1. The World Health Organization (WHO), 2011: www.cdc.gov/cancer/
2. Singh J., Kaur M., Current Advances and Strategies for Reducing the Side Effects of Radiation Therapies used for Various Types of Cancers, *Int. J. App. Biol. Pharm. Techn.* 3 (I) 2012: 184-199

3. Beroukas E, Peponi E, Soulimioti G, et al. Intraoperative electron beam radiotherapy followed by moderate doses of external beam radiotherapy in the treatment of resected soft tissue sarcomas of the extremities. *J Buon*. 2004; 9 (4):391-398
4. Willich, Annweiler, Kronholz, Hampel in product brochure: „Flaps zur Afterloading-Therapie“, Kabel- Labortechnik GmbH, 51588 Nümbrecht-Elsenroth
5. Willett C.G., Czito B.G., Tyler D.S., Intraoperative radiation therapy. *J Clin Oncol*. 2007; 25: 971-977
6. Jolyon H. Hendry J.H., Jeremi B., Zubizarreta E.H., Normal tissue complications after radiation therapy, *Rev Panam Salud Publica*. 2006, *Pan Am J Public Health* 20(2/3),2006:151-160
7. Bolus N.E., Basic Review of Radiation Biology and Terminology, *J. Nucl. Med. Techn.* 2001, 29 (2) : 67-73
8. Azzam EI, De Toledo SM, Spitz DR, Little JB. Oxidative metabolism modulates signal transduction and micronucleus formation in bystander cells from alpha-particle irradiated normal human fibroblast cultures. *Cancer Res* 2002;62:5436–5442.
9. Shao C, Stewart V, Folkard M, Michael BD, Prise KM. Nitric oxide-mediated signaling in the bystander response of individually targeted glioma cells. *Cancer Res* 2003;63:8437–8442
10. Quinn P.J., The effect of tocopherol on the structure and permeability of phosphatidylcholine liposomes, *J Controlled Release* 160 (2012) 158–163
11. Mutalib, M.S.A., H. Khaza'ai, and K.W.J. Wahle, Palm-tocotrienol rich fraction (TRF) is a more effective inhibitor of LDL oxidation and endothelial cell lipid peroxidation than alpha-tocopherol in vitro, *Food Res. Int.*, (2003) 36: 405-413
12. Kumar B., Jha M.N., Bedford J.S., Prasad K.N.. D-alpha-tocopheryl succinate (vitamin E) enhances radiation-induced chromosomal damage levels in human cancer cells, but reduces it in normal cells, *J. Am. College of Nutr.*, (2002) 21 (4): 339-343
13. Duhem N., Danhier F., Pr at V., Vitamin E-based nanomedicines for anti-cancer drug delivery, *J Controlled Release* 182 (2014) 33–44
14. Bhowmick M., Sengodan T., Mechanisms, kinetics and mathematical modelling of transdermal permeation - an updated review, *Int. J. Res. Dev. Pharm. L. Sci.* (2013) 2 (6): 636-641
15. Augustyniak A., Natural and synthetic antioxidants: An updated overview, *Free Radical Research*, (2010) 44(10): 1216–1262
16. Jimenez-Alvarez D. et al High-throughput methods to assess lipophilic and hydrophilic antioxidant capacity of food extracts *in vitro* . *J Agric Food Chem* 2008, 56: 3470-3477

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ОКТАЭДРИЧЕСКИХ КЛАСТЕРНЫХ
КОМПЛЕКСОВ РЕНИЯ С РАЗЛИЧНЫМ СОСТАВОМ КЛАСТЕРНОГО ЯДРА**

Т. Н. Позмогова, А.А. Красильникова, А.О. Соловьева, М.А. Шестопапов

Научный руководитель: проф, д. б. н. Л.В. Шестопапова.

Новосибирский государственный университет,

Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2, 630090

E-mail: tnp_post@mail.ru

**ACUTE INTRAVENOUS TOXICITY OF OCTAHEDRAL RHENIUM CLUSTER COMPLEXES
WITH DIFFERENT CONTENT OF CLUSTER CORE**

T. N. Pozmogova, A. A. Krasilnikova, A. O. Soloveva, A. M. Shestopalov

Scientific Supervisor: Prof., Dr. L. V. Shestopalova.

Novosibirsk State University, Russia, Novosibirsk, Pirogova str., 2, 630090

E-mail: tnp_post@mail.ru

Abstract. Octahedral rhenium cluster complex may have considerable potential as metallic therapeutic and diagnostic drugs due to its physical-chemical properties. We were interested if the content of cluster core (different inner ligands) has an influence on toxicity of cluster complexes. The aim of our research was to study acute intravenous toxicity of octahedral rhenium cluster complexes following composition $Na_4 [Re_6Q_8](CN)_6$ where Q is selenium, sulfur or tellurium (Q=Se/S/Te) in the mice model in vivo. Twenty BALB/C female mice were randomized into 4 groups of 5 animals per group receiving intravenous injection of the selenium, sulfuric or tellurium clusters at a dose 500 mg/kg of rhenium. No evidence of toxicity were seen in the group of mice received 500 mg/kg of tellurium complex. After intravenous injection of 500 mg/kg selenium complex 3 mice lived for two weeks and then were sacrificed for morphological analysis. Other 2 mice have dead at the first day. However, the injection of 500 mg/kg sulfur complex resulted in instant death of mice, so the dose was reduced by a factor of 2. Three mice, received 250 mg/kg of this complex, lived for 2 weeks and 1 mice of this group dead at the first day. Morphological analysis has shown that the target organ for toxic effect of rhenium cluster complexes is liver. There were no morphological changes in renal tissue after injection of any investigated cluster complexes as compared with control PBS group. Other investigated organs such as brain, heart, spleen and lungs also show no signs of toxicity. Consequently, the cluster complexes based on $\{Re_6Te_8\}$ -cluster core is the safest agent for biomedical application.

Октаэдрические кластерные комплексы рения состава $[Re_6Q_8]L_6$ (где Q – внутренний лиганд (S/Se/Te), L — внешний органический или неорганический лиганд) [1] способны поглощать рентгеновское излучение и люминисцировать при облучении УФ-светом. Благодаря этим свойствам данные соединения имеют большой потенциал во многих областях биологии и медицины. Они привлекательны для изучения в качестве новых рентгеноконтрастных агентов для компьютерной томографии (КТ) и ангиографии, а также могут использоваться в качестве фотосенсибилизаторов для

фотодинамической терапии (ФДТ). Однако биологические свойства кластерных комплексов рения на данный момент почти не изучены [2-4].

Безусловно, невозможно говорить о внедрении данных соединений в клиническую практику до тех пор, пока детально не изучено их влияние на живые клетки и организм животных в целом. Поэтому целью данной работы является изучение острой токсичности октаэдрических кластерных комплексов рения в зависимости от состава их кластерного ядра. Для этого были исследованы 3 кластерных комплекса $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]$ с S, Se и Te внутренним лигандом (Q). Для изучения острой токсичности 20 мышей линии Balb/c были разделены на 4 группы. Трём группам вводились комплексы с внутренним лигандом S, Se или Te. Контрольной группе вводился стерильный фосфатный буфер. Изучаемые комплексы вводились внутривенно в дозировке 500 мг (Re)/кг. Через 2 недели после введения проводился забой мышей и забор органов для морфологического анализа. Морфологический анализ проводился с использованием светового микроскопа, препараты окрашивались гематоксилином и эозином.

При введении серного кластерного комплекса дозировку пришлось уменьшить в 2 раза (до 250 мг(Re)/кг), так как после инъекции полной дозы он вызвал мгновенную гибель мыши. При введении разбавленного препарата умерла 1 мышь из 4 оставшихся. Гибель животного была зафиксирована на второй день после введения. Селеновый кластерный комплекс вводился в полной дозе (500 мг(Re)/кг) и вызвал гибель 2 мышей из 5 на второй день после введения. Теллуридный кластерный комплекс вводился в полной дозе (500 мг(Re)/кг) и не вызвал гибели мышей в течение всего времени наблюдения (Таблица 1).

Таблица 1

Выживаемость мышей в эксперименте на острую токсичность

| Кластерное ядро | Доза | Выживаемость |
|---------------------------------|---------------|--------------|
| Re ₆ S ₈ | 500 мг(Re)/кг | 0/1 |
| | 250 мг(Re)/кг | 3/4 |
| Re ₆ Se ₈ | 500 мг(Re)/кг | 2/5 |
| Re ₆ Te ₈ | 500 мг(Re)/кг | 5/5 |

После введения серного ($Na_4[\{Re_6S_8\}(CN)_6]$) кластерного комплекса в дозе 250 мг(Re)/кг в печени мышей, забитых через 2 недели после введения, наблюдались дистрофические изменения гепатоцитов, особенно ярко выраженные в районе печеночных триад. После введения селенового ($Na_4[\{Re_6Se_8\}(CN)_6]$) кластерного комплекса в дозе 500 мг(Re)/кг дистрофия наблюдается в меньшей степени и также концентрирована вокруг триад. После введения теллуридного ($Na_4[\{Re_6Te_8\}(CN)_6]$) препарата в дозе 500 мг(Re)/кг в печени мышей не наблюдается значительных отличий от контроля.

В результате эксперимента было выяснено, что наиболее токсичным комплексом является $[\{Re_6S_8\}(CN)_6]$, а наиболее безопасным – $[\{Re_6Te_8\}(CN)_6]$. Поэтому для дальнейшего исследования использовался $[\{Re_6Te_8\}(CN)_6]$ кластерный комплекс, как наиболее перспективный. С использованием исследуемого комплекса была проведена ангиография. Было получено изображение с высокой степенью контрастности.

На основании проведенного исследования были сделаны следующие выводы:

1. Биологические эффекты октаэдрических кластерных комплексов рения зависят от состава кластерного ядра.
2. Кластерный комплекс с теллуридным кластерным ядром $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{Te}_8\}(\text{CN})_6]$ является наименее токсичным, а наиболее токсичным – серный $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]$.
3. Морфологический анализ органов показал, что органом-мишенью всех комплексов является печень.
4. При ангиографии с использованием $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{Te}_8\}(\text{CN})_6]$ кластерного комплекса получается изображение высокого качества и контрастности.

Таким образом, в данном исследовании обнаружена низкая токсичность $[\{\text{Re}_6\text{Te}_8\}(\text{CN})_6]$ кластерного комплекса рения, а также показана принципиальная возможность его использования в качестве рентгеноконтрастного агента.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-34-00542

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shestopalov M.A., Ivanov A. A., Smolentsev A. I., Mironov Y. I. Crystal structure of the octahedral cluster complex $\text{trans} [\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{pyz})_4\text{I}_2] \cdot 2\text{pyz}$. // Journal of Structural Chemistry. – 2014. – Vol. 55. – P. 139-141.
2. Choi S.J., Brylev K.A., Xu J. Cellular uptake and cytotoxicity of octahedral rhenium cluster complexes. // J Inorg Biochem. – 2008. – Vol. 102. – P. 1991-1996.
3. Echeverrira C., Stehberg, J., Zheng, Z., Arratia-perez, R., Simon, F. The paramagnetic and luminescent $[\text{Re}_6\text{Se}_8\text{I}_6]_3$ cluster. Its potential use as an antitumoral and biomarker agent. // New J. Chem. – 2012. – Vol. 36. – P. 927–932.
4. Брылев К.А., Шестопалов М.А. Биораспределение кластерного соединения рения. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155.

**АНАЛИЗ АБЕРРАНТНО-МЕТИЛИРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В СОСТАВЕ
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ДНК КРОВИ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО**

А.А. Пономарева^{1,3}, А.А. Бондарь², А.Ю. Добродеев¹

Научный руководитель: профессор, д.б.н. Н.В. Чердынцева

¹Томский НИИ Онкологии,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634009

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,

Россия, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8, 630090

³Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: anastasia-ponomaryova@rambler.ru

**ANALYSIS OF ABERRANTLY METHYLATED SEQUENCES IN CIRCULATING DNA FROM
BLOOD OF PATIENTS WITH LUNG CANCER**

A.A. Ponomaryova^{1,3}, A.A. Bondar², A.Yu. Dobrodeev¹

Scientific Supervisor: Prof., Dr. N.V. Cherdynitseva

¹Tomsk Cancer Research Institute, Russia, Tomsk, Kooperativny str., 5, 634009

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Russia, Novosibirsk, Lavrentiev ave., 8, 630090

³National Research Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenina str., 30, 634050

E-mail: anastasia-ponomaryova@rambler.ru

Abstract. Malignant cell transformation is accompanied by two processes of DNA methylation changes: promoter hypermethylation of specific genes and hypomethylation of retrotransposons. The composition of circulating DNA (cirDNA) from plasma and cell-surface-bound circulating DNA (csb-cirDNA) was shown earlier to be altered in the blood of cancer patients due to accumulation of tumor-specific aberrantly methylated DNA fragments, which are currently considered valuable cancer markers. The present study compares LINE-1 retrotransposon methylation patterns in plasma cirDNA and csb-cirDNA from untreated lung cancer patients (LC) and healthy donors. Concentrations of methylated LINE-1 region 1 copies (LINE-1met) were assayed by real-time methylation-specific PCR. In order to normalize the LINE-1 methylation level, the LINE-1 region 2 concentration was evaluated, which was independent of the methylation status (LINE-1Ind). We recorded an statistically significant increase of the LINE-1 methylation index determined as (LINE-1met/LINE-1Ind) due to the profound LINE-1Ind decrease (Mann-Whitney test, $p = 0.005$). Plasma cirDNA demonstrated no difference in the ratio LINE-1met/LINE-1Ind between LC patients and healthy donors ($p = 0.40$). The data obtained agree with our earlier results, which showed that csb-cirDNA was a highly informative material for lung cancer diagnostics.

Изменение профиля метилирования ДНК является одним из наиболее ранних и распространенных событий канцерогенеза. Имеются данные о гипометилировании LINE-1 в злокачественных опухолях легких [1, 2]. Основными компонентами aberrантного метилирования ДНК клеток опухоли являются

гиперметилирование промоторов некоторых генов и гипометилирование значительной части ДНК, в частности повторяющихся последовательностей ретротранспозонов. Показано, что при онкологических заболеваниях в составе циркулирующей ДНК (цирДНК) плазмы и цирДНК, связанной с поверхностью клеток крови (скп-цирДНК), накапливаются фрагменты опухолеспецифичных aberrантно метилированных ДНК, которые являются потенциальными онкомаркерами [3]. Целью настоящего исследования явилось проведение сравнительного анализа уровня метилирования LINE-1 ретроэлементов в циркулирующих ДНК крови больных раком легкого и здоровых доноров. В исследование было включено 21 больной РЛ (T₁₋₃N₀₋₃M₀), с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 40-75 лет, находившихся на лечении в клинике НИИ онкологии. Материалом для исследования послужила венозная кровь, которая забиралась до лечения. Для выделения цирДНК из плазмы и фракций крови, и цирДНК после бисульфитной конверсии использовали наборы «Биосилика». Анализ уровня метилирования LINE-1 элементов с использованием количественной метил-специфичной ПЦР. Рассчитывали индекс метилирования как долю метилированных молекул от общего числа молекул по формуле (%) = 100 × (LINE-1met/LINE-1Ind). В скп-цирДНК при вычислении ИМ (LINE-1met/LINE-1Ind) мы наблюдали значимое увеличение в группе больных РЛ по сравнению со здоровыми донорами (критерий Манна-Уитни, p = 0,005). Согласно данным ROC-анализа, оценка индекса метилирования LINE-1 повторов в цирДНК фракции, связанной с поверхностью клеток крови, позволяет с чувствительностью 78% и специфичностью 80% отличить больных РЛ от здоровых доноров (при пороговом значении ИМ 53%). В цирДНК плазмы ИМ (LINE-1met/LINE-1Ind) в общей группе больных не отличается от уровня здоровых доноров (p = 0,398). При анализе связи между ИМ (LINE-1met/LINE-1Ind) в цирДНК крови и гистологическим типом опухоли установлено, что в цирДНК плазмы больных с аденокарциномой ИМ значимо ниже, чем у больных с плоскоклеточным раком легкого (p = 0,021), и в скп-цирДНК для обоих гистотипов наблюдается одинаковое увеличение ИМ по сравнению с контролем.

Таблица 1

Индекс метилирования LINE-1 в цирДНК крови больных РЛ и здоровых доноров

| Группа РЛ | n | Скп-цирДНК* | Критерий Манна-Уитни | цирДНК плазмы крови | Критерий Манна-Уитни |
|---------------------------|----|--------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| АК | 8 | 67 [#] ±8 | p = 0,832 | 17 [#] ±3 | p = 0,021 |
| ПКРЛ | 13 | 70±13 | | 32±5 | |
| Больные РЛ (общая группа) | 21 | 69±7 | p = 0,005 | 21±4 | p = 0,398 |
| Здоровые доноры | 23 | 37±6 | | 27±5 | |

Примечание: * - индекс метилирования LINE-1 (%), представлены средние значения и стандартная ошибка; # - сравнение проводилось между группами ПКРЛ и АК; ПКРЛ – плоскоклеточный рак легкого, АК – аденокарцинома.

Наши данные о снижении концентрации LINE-1met фрагментов в цирДНК крови согласуются с результатами нескольких полногеномных исследований, согласно которым разные классы длинных диспергированных повторов в цирДНК плазмы представлены различным образом: длинные LINE-1 повторы недопредставлены, и наоборот, короткие Alu повторы перепредставлены в цирДНК плазмы/сыворотки крови по сравнению с геномной ДНК из клеток [4, 5]. Причем пониженное для LINE-1 или повышенное для Alu содержание фрагментов цирДНК становится значимо более выраженным в

цирДНК у больных с опухолями по сравнению со здоровыми донорами [4]. Кроме того, значимое снижение концентрации фрагментов LINE-1 района 2 в цирДНК крови у больных РЛ по сравнению со здоровыми донорами может быть связано с репрессией хроматина в зонах LINE-1 при ослаблении метилирования ДНК, что объясняется активацией защитных механизмов клетки [6].

Таким образом, выявленные в крови при РЛ более значительные изменения концентрации фрагмента LINE-1 района 2 во фракции цирДНК, связанной с поверхностью клеток, по сравнению с цирДНК плазмы, указывают на различия в механизмах накопления фрагментов ДНК в плазме и связанной с клетками фракции крови и подтверждают более ранние данные о том, что фракция скп-цирДНК является высокоинформативным источником материала для диагностики рака, в том числе злокачественных новообразований легкого [7, 8]. Представляется интересным дальнейшее исследование относительной представленности и профиля метилирования разных районов LINE-1 элементов, которые наряду с другими aberrантно метилированными районами могут войти в состав новых панелей онкомаркеров крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Saito K., Kawakami K., Matsumoto I., Oda M., Watanabe G., Minamoto T. (2010). Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation is a marker of poor prognosis in stage IA non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, no. 16, pp. 2418-2426.
2. Suzuki M., Shiraishi K., Eguchi A., Ikeda K., Mori T., Yoshimoto K., Ohba Y., Yamada T., Ito T., Baba Y., Baba H. (2013). Aberrant methylation of LINE-1, SLIT2, MAL and IGFBP7 in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*, no. 29, pp. 1308-1314.
3. Schwarzenbach H., Nishida N., Calin G.A., Pantel K. (2014). Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer. *Nature Rev Clin Oncol*, no. 11, pp. 145-156.
4. Beck J., Urnovitz H.B., Mitchell W.M., Schütz E. (2010). Next generation sequencing of serum circulating nucleic acids reveals differences to healthy and nonmalignant controls acids from patients with invasive ductal breast cancer. *Mol. Cancer Res*, no. 8, pp. 335-342.
5. Morozkin E.S., Loseva E.M., Morozov I.V., Kurilshikov A.M., Bondar A.A., Rykova E.Y., Rubtsov N.B., Vlassov V.V., Laktionov P.P. (2012). A comparative study of cell-free apoptotic and genomic DNA using FISH and massive parallel sequencing. *Expert Opin Biol Ther*, no. 12, pp. S141-S153.
6. Dunican D.S., Cruickshanks H.A., Suzuki M., Semple C.A., Davey T., Arceci R.J., Greally J., Adams I.R., Meehan R.R. (2013). Lsh regulates LTR retrotransposon repression independently of Dnmt3b function. *Genome Biol*, no. 14, pp. R146.
7. Rykova E.Y., Morozkin E.S., Ponomaryova A.A., Loseva E.M., Zaporozhchenko I.A., Cherdyntseva N.V., Vlassov V.V., Laktionov P.P. (2012). Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes: mechanisms of generation, concentration and content. *Expert Opin Biol Ther*, no. 12, pp. S141-S153.
8. Ponomaryova A., Rykova E., Cherdyntseva N., Skvortsova T.E., Dobrodeev A.Y., Zav'yalov A.A., Bryzgalov L.O., Tuzikov S.A., Vlassov V.V., Laktionov P.P. (2013). Potentialities of aberrantly methylated circulating DNA for diagnostics and post-treatment follow-up of lung cancer patients. *Lung Cancer*, no. 81, pp. 397-403.

MICROBIOLOGICAL PRODUCTION OF S-EQUOL

S.M. Razavizadeh, Yu.Yu.Morzherin,

Scientific Supervisors: Prof. E.G. Kovaleva, Ass. Prof. T.V. Glukhareva
Ural Federal University, Russia, Yekaterinburg, Mira Str.19, 620002

E-mail: razavim86@gmail.com

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ S-ЭКВОЛА

Саидмахмуд Разавидаде, Ю.Ю. Моржерин

Научные руководители: профессор, к.х.н. Е.Г. Ковалева, доцент, к.х.н. Т.В. Глухарева
Уральский Федеральный Университет, Россия, Екатеринбург, Мира 19, 620002

E-mail: razavim86@gmail.com

Аннотация. В работе проведены эксперименты по трансформации даидзеина в эквол посевом 5-ти штаммов живых бактерий на жидкой питательной среде на основе соевого гидролизата. Эквол был обнаружен в одном из нативных экстрактов после культивирования одного из штаммов *Bacillus species* методом газовой хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрией.

Introduction. Equol (40,7-dihydroxy-isoflavandiol) belongs to isoflavones and recently attract much interest due to several beneficial effects on human health. Daidzein, a well-known isoflavone existed abundantly in soya, is found out to be converted into equol by intestinal bacteria via the intermediate dihydrodaidzein.

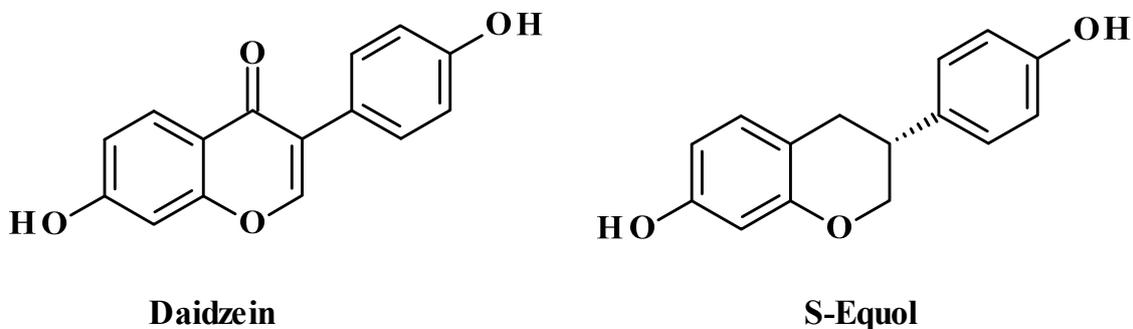


Fig. 1. Daidzein and S-equol structural formulas

Equol is a compound that can exist in two forms known as S(-) and R(+) equol enantiomers. Only S-equol is produced in humans and animals with the ability to produce equol after soy isoflavone consumption. Due to the structural similarity to estrogen (E2), equol elicits a high-affinity to its receptors (ER) and exerts an even more potent estrogenic hormone activity than its precursor daidzein. Only 25–30% of the adults in Western countries and 50–60% of Asian adults can produce equol biologically and are termed “equol-producers”. Equol-producers are hypothesized enable favourable usage of isoflavones in soya-based diets and, thus associated with lower risks of a series of hormone-dependent cancers, such as prostate cancer and breast cancer [1,2]. Exclusively S-equol is believed to have biological activity in the body. No other compound has yet been

identified which has selective estrogen action and yet also has the ability to be an antagonist of androgen action. The potent bioactivity of equol led to a boost of investigations in searching for separation of the specific bacteria responsible for converting daidzein to equol. Up to now several strains converting daidzein to S-equol have been isolated from human or animal faeces and limited of them have been found in food stuffs [2,3]. The purpose of this work is to find a new microorganism strains with ability to produce S-equol in soya media in order for its further usage as a food supplement.

Materials and Methods. Five bacteria strains of *Bacillus species* and *Lactobacillus sp.* were used to convert daidzein into S-equol in soya medium. Nutrient media based on hydrolysed soya was prepared as follows. 18.2 g of hydrolysed soya, 520 mg of ammonium sulphate, 4 g of starch, 4 g of calcium carbonate and 40 mg of daidzein were dissolved in 500 ml of distilled water. The obtained nutrient medium was sterilized at 210°C for 10 minutes in autoclave 5 conical flasks of 500 ml were filled up with 100 ml of the medium. All of them were used for culturing 5 different bacteria strains, which were inoculated into the media from agar slopes. The process of culturing proceeded at 36°C for 10 days on rotational shaker with a speed of agitation 150 rpm. Further culturing liquid was separated from microbe mass by centrifugation. Ethyl acetate was used for the extraction of the final products. The extract obtained was dissolved in ethanol and analyzed on gas chromatograph Agilent 7890 A [4].

Results. The nutrient medium components were mainly found in the gas chromatogram of the extract after culturing one of the *Bacillus sp.* strain (Fig.1), however, there was detected a small peak at retention time 16.26 min which corresponds to equol.

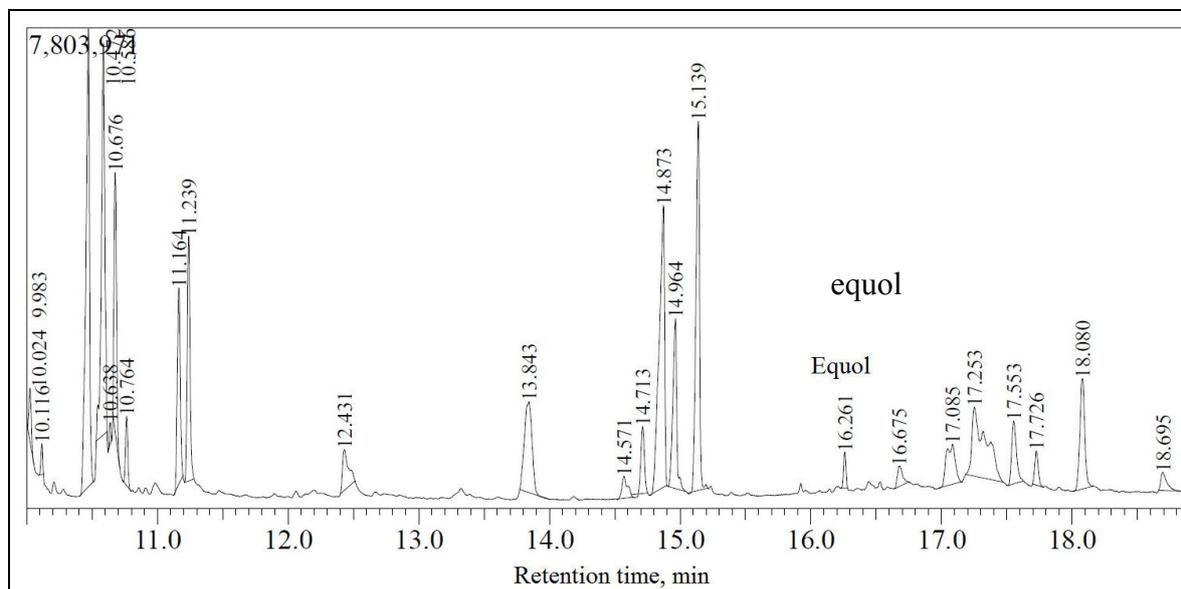


Fig. 2. Gas chromatogram of the extract after culturing one of the *Bacillus sp.* strain

After culturing bacteria strains daidzein was found only in four native extracts obtained, whereas another compound with the mass spectrum corresponding to that for equol (Fig.3.) has been detected in the 5th one (Fig.4.).

It was obtained after culturing *Bacillus sp.* Thus, the strain which able to convert daidzein to equal in soya medium was found.

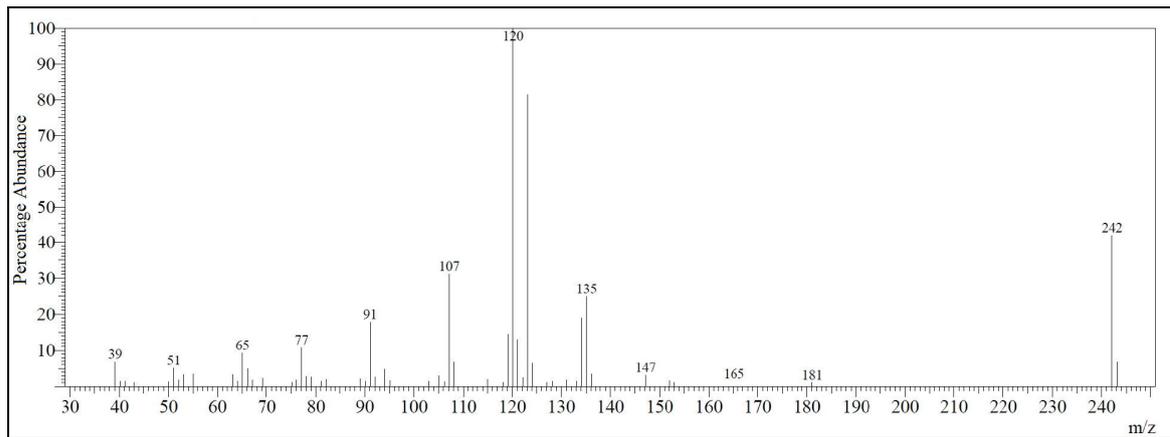


Fig. 3. Mass spectrum of *S*-equol standard

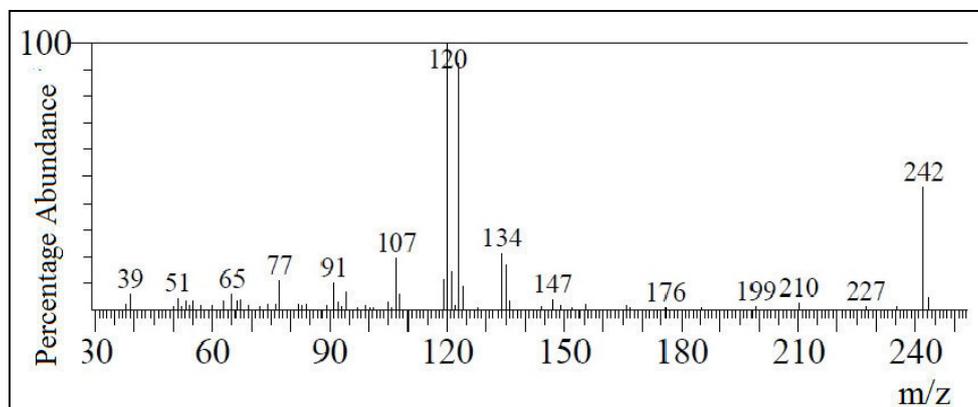


Fig. 4. Mass spectrum of equol in the extract

Conclusion. In further experiments we are going to increase of daidzein amount in nutrient medium in order to obtain a greater amount of equol as well as to isolate pure equol and to study its affiliation to *S*- or *R*-enantiomers.

REFERENCES

1. Atkinson, C, Frankenfeld, C.L, Lamp J.W (2005). Gut bacterial metabolism of the soy isoflavone daidzein: exploring the relevance to human health. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.), no. 230 (3), pp.155–170.
2. Setchell, K.D, Clerici, C. (2010). Equol: history, chemistry, and formation. *J. Nutrition*, no.140 (7), pp.1355–1362.
3. Watanabe, S., Yamaguchi, M, Sobue, T., Takahashi, T., Miura, T, Arai, Y, Mazur, W., Wähälä, K, Adlercreutz, H. (1998). Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and faeces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). *J. Nutrition*, no. 128 (10), pp. 1710–1715.
4. Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2007). *Principles of Instrumental Analysis*. Sixth Edition, Thomson Brooks/Cole, USA.

**СИНТЕТИЧЕСКИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ МАТРИКСЫ НА ОСНОВЕ
ПОЛИКАПРОЛАКТОНА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ПАРАЦЕТАМОЛА**

А.А. Ракина^а, Я.С. Бабинская

Научный руководитель: к.ф.-м.н. С.И. Твердохлебов

^а Институт физики высоких технологий, кафедра Наноматериалов и нанотехнологий

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: aar37@tpu.ru

**SYNTETIC BIODEGRADABLE ELECTROSPUN POLY (ϵ -CAPROLACTONE) NANOFIBERS
FOR PARACETAMOL TARGETED DELIVERY**

A.A. Rakina^а

Scientific adviser: PhD, S.I. Tverdokhlebov

^аInstitute of High Technology Physics, Department of Nanomaterials and Nanotechnologies,

National Research Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue, 30, 634050

E-mail: aar37@tpu.ru

Abstract. *Electrospun poly (ϵ -caprolactone) (PCL) nanofibers with a 8 wt.%, 16 wt.%, 32 wt.% paracetamol load were successfully prepared. Shown, that drug load affects the morphology of scaffolds: increase of a loaded drug amount enhance a tendency to fusion between fibers. Kinetics of the paracetamol release from 16 wt.% scaffold in PBS medium was analysed by HPLC. In the first hour 97% of the total drug released into PBS-solution.*

Адресная доставка плохо растворимых в воде лекарственных препаратов и возможности их контролируемого высвобождения активно обсуждаются в научном сообществе. Основной причиной этого является необходимость, с одной стороны, в быстром и безопасном выходе лекарства, что весьма важно при использовании для таких пациентов, как дети и пожилые люди, и, с другой стороны, необходимость в высокой дозировке, связанная с плохой растворимостью в воде. Синтетические биоразлагаемые полимерные матриксы на основе поликапролактона (PCL) и нерастворимого в воде лекарственного препарата, получаемые методом электроспиннинга, представляются весьма перспективными материалами для реализации эффективной доставки лекарств в организм человека [1]. Хорошие результаты были достигнуты включением в матрицу ибупрофена и карведилола [2]. Целью данного исследования было создание опытных образцов матриксов на основе PCL и парацетамола и оценка темпов выхода препарата в буферную среду.

Для приготовления прядильных растворов были использованы поликапролактон (PCL) $M \sim 70,000-90,000$ г / моль (Sigma-Aldrich, Германия) и гексафторизопропанол (ГФИП) (Экос-1, Россия), парацетамол (Shandong Xinhia Pharmaceutical, Китай). Фосфатно-солевой буферный раствор (pH = 7,4) получали путем смешивания 200 мл дистиллированной воды с 2 таблетками порошка фосфатно-солевого буфера (Биолот, Россия). Контрольный раствор PCL (7 масс.%) готовили путем растворения 4,5 г гранул

PCL в 59,8 г ГФИП. Для приготовления (8 масс.%, 16 масс.% , 32 масс.%, в пересчете на сухую массу полимера) растворов PCL с парацетамолом, в предварительно растворенный в ГФИП порошок парацетамола добавляли 4,5 г гранул PCL, добавляли остальную массу растворителя (в расчете 59,8 г на весь раствор). Смеси выдерживали в течение 30 ч при комнатной температуре в герметичных стеклянных контейнерах до полной гомогенизации.

Формование нановолокон выполнялось на установке для электроспиннинга Nanon-01 (MECC CO., Япония) на цилиндрическом коллекторе диаметром 200 мм. Параметры процесса, использованные в данном исследовании, приведены в таблице 1.

Таблица 1

Параметры процесса, оптимизированные для изготовления нановолокон из PCL совместно с парацетамолом

| Параметр, ед. измерения | Значение | Параметр, ед. измерения | Значение |
|--------------------------------------|----------|--|----------|
| Напряжение, кВ | 20 | Ширина матрикса, мм | 70 |
| Скорость подачи, мл/ч | 5 | Диаметр иглы, мм | 1.2(18G) |
| Скорость вращения коллектора, об/мин | 50 | Расстояние между иглой и коллектором, мм | 150 |
| Объём раствора, мл | 8 | Частота/интервал очистки иглы, мин | 10/0 |

Полученные матриксы показали различную адгезию к коллектору, которая усиливалась с увеличением содержания лекарственного средства. Для отделения матрикса с парацетамолом от поверхности коллектора без повреждения структуры материала был использован изопропиловый спирт в качестве увлажняющего агента. После отделения образцы были помещены в лабораторную вакуумную камеру на 24 часа (5×10^{-3} кПа) для удаления остаточных растворителей.

Средний диаметр нановолокон определялся с помощью СЭМ (Quanta 200 3D Dual Beam, FEI Company, США). Представители каждой группы образцов, помещенные на токопроводящий скотч, подвергались напылению тонкого слоя золота, чтобы обеспечить электрический контакт материала с подложкой и предотвратить накопление отрицательного заряда на поверхности образцов. Средний диаметр волокна и его стандартное отклонение указаны на рис. 1.

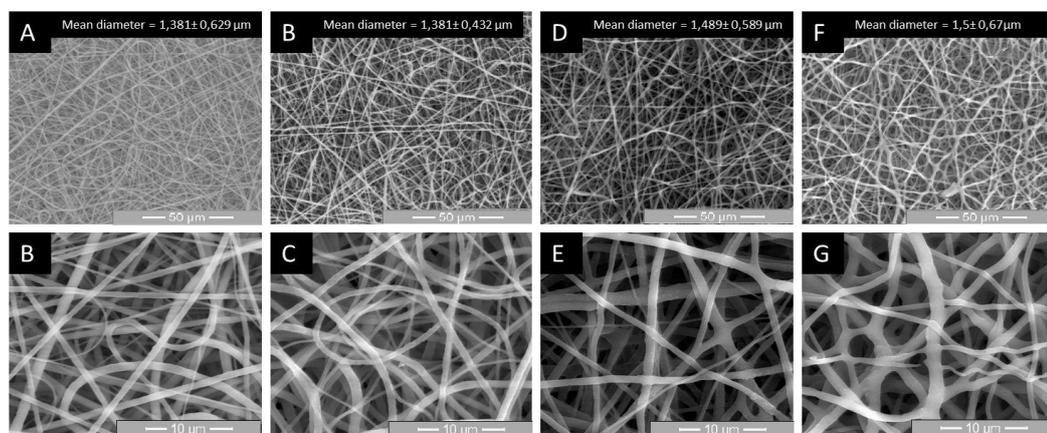


Рис. 1. СЭМ-изображения нановолокон PCL с концентрацией 8 масс.% (B($\times 1000$), C($\times 20000$)), 16 масс.% (D, E), 32 масс.% (F, G) парацетамола (от массы сухого полимера) и контрольного образца(A, B)

Электроспиннинг прядильных растворов по выбранным параметрам (таблица 1) позволил получить ориентированные случайным образом волокна с высокоразвитой поверхностью. Были успешно получены матрицы с высоким содержанием парацетамола (рис 1. F, G). Высокое содержание лекарственного вещества влияет на морфологию матриц, как показано на рис. 1 и сообщалось ранее в работе [3]. На СЭМ изображениях сформированных с включением парацетамола матриц видны нановолокна с гладкой поверхностью, без видимых кристаллов, что указывает на полное проникновение парацетамола в тело волокон. В то же время, заметна тенденция к слипанию волокон при увеличении содержания лекарственного препарата. На макроскопическом уровне это явление коррелирует с изменением адгезии между матрицей и коллектором.

Для первичного анализа скорости выхода парацетамола из матрицы был выбран матрица с 16 масс. % содержанием парацетамола. Из матрицы были вырезаны четыре квадратных образца площадью 35 мм×35 мм. Образцы были помещены в четыре стеклянных сосуда и закреплены с помощью держателей из нержавеющей стали. Затем 35 мл фосфатно-солевого буфера, выбранного в качестве среды, моделирующей физиологические жидкости, добавляли к каждому образцу так, чтобы полностью покрыть его поверхность. Образцы выдерживались при комнатной температуре в течение двух недель на магнитной мешалке. Через заранее определенные промежутки времени 200 мкл раствора отбирали на пробу и возвращали равный объем чистого буфера. После центрифугирования (3 мин, 50000 оборотов в минуту) образец анализировали с помощью ВЭЖХ (Agilent 1200 Infinity, Agilent Technologies, USA) для определения концентрации парацетамола. Анализ проводили с использованием колонки C18 (3,5 мкм, 75 мм × 2 мм, МИЛИХРОМ, Россия) при 35 ° С. Подвижная фаза – ацетонитрил – ТФА (90:10). Скорость потока элюэнта 0,2 мл/мин, детектор диодной матрицы, $\lambda = 240$ нм. Средняя величина вышедшего из образцов парацетамола составила более 97% от общей массы в течение первого часа.

Полученные результаты показали, что метод электроспиннинга может быть использован для получения нановолокон поликапролактона с высокой концентрацией парацетамола. Показано, что введение плохо растворимых в воде лекарственных средств, таких как парацетамол, в синтетические биodeградируемые матрицы на основе поликапролактона приводит к их быстрому высвобождению в рН-нейтральной среде. В целом, формирование биodeградируемых полимерных матриц методом электроспиннинга можно считать многообещающим подходом к доставке плохо растворимых в воде лекарственных средств с целью достижения их контролируемого и локализованного высвобождения.

Исследование финансово поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации, Федеральная целевая программа (соглашение №14.578.21.0031, уникальный идентификатор RFMEFI57814X0031).

REFERENCES

1. Coombes A. G. A. et al. Precipitation casting of polycaprolactone for applications in tissue engineering and drug delivery //Biomaterials. – 2004. – Т. 25. – №. 2. – С.315-325.
2. Liu H., Leonas K. K., Zhao Y. Antimicrobial properties and release profile of ampicillin from electrospun poly (ϵ -caprolactone) nanofiber yarns //J Eng Fiber Fabr. – 2010. – Т. 5. – №. 4. – С.10-19.
3. Potrč T. et al. Electrospun polycaprolactone nanofibers as a potential oromucosal delivery system for poorly water-soluble drugs //European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2015. – Т. 75. – С.101-113.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *ATM*, *NBS1*, *XRCC2*, *XRCC3* У ЖИТЕЛЕЙ КЕМЕРОВСКОЙ
ОБЛАСТИ БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО**

А.В. Рыжкова, Р.А. Титов, О.А. Соболева

Научный руководитель: к.б.н., доцент В.И. Минина

Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской
академии наук, Россия, г. Кемерово, пр. Советский, 18, 650000

E-mail: A.VRyzhkova@yandex.ru

***ATM*, *NBS1*, *XRCC2*, AND *XRCC3* GENE POLIMORPHISMS IN SQUAMOUS LUNG CANCER
PATIENTS AND HEALTHY PERSONS FROM KEMEROVO REGION**

A.V. Ryzhkova, R.A. Titov, O.A. Soboleva

Scientific Supervisor: candidate of Biology, Assistant Professor V.I. Minina

The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences, Russia, Kemerovo, Sovetsky Ave, 18, 650000

E-mail: A.VRyzhkova@yandex.ru

Abstract. *ATM Asp1853Asn, NBS Glu185Gln, XRCC2 ArgHisHis, XRCC3 Thr241Met genes polymorphism in squamous cell carcinoma of the lung patients and healthy persons of the Kemerovo region has been studied. The prevalence XRCC3 Thr in the group of patients with squamous cell carcinoma lung cancer statistically significantly lower than in healthy people. In addition, there has been an increase in the frequency of homozygotes Met/Met gene XRCC3 smoking patients with squamous cell carcinoma of the lung. The obtained data are of significant interest for epidemiological studies hereditary predisposition to the development of lung cancer.*

Рак легкого (РЛ) – опухоль эпителиального происхождения, развивающаяся в слизистой оболочке бронха, бронхиол и слизистых бронхиальных желез. Наиболее часто диагностируется в России плоскоклеточный рак легкого (ПРЛ) (68% случаев), реже – аденокарцинома и другие формы РЛ [3]. Известно, что полиморфизмы генов системы репарации ДНК служат фактором риска развития РЛ. Очень важной для клетки (и для канцерогенеза) является ее способность воссоединять случайные двойные разрывы ДНК (DSBR-путь), что осуществляется двумя различными репарационными механизмами – негомологическим воссоединением концов ДНК и путем гомологической рекомбинации при наличии по соседству второй копии неповрежденного идентичного по нуклеотидной последовательности сегмента ДНК, например сестринской хроматиды. Рядом исследований было показано, что на предрасположенность к злокачественным заболеваниям влияют наследственные особенности ферментов репарации ДНК. Мутации ДНК-репарирующих генов увеличивают риск возникновения опухолевой трансформации [6,7].

В исследование включено 255 больных ПРЛ (средний возраст 59 лет), среди них 234 мужчины и 21 женщина, поступивших (первично) на лечение в Кемеровский областной клинический онкологический диспансер. В качестве популяционного контроля использовали выборку 356 условно здоровых лиц

(средний возраст 50 лет), 277 мужчины и 79 женщин, проживающих в г. Кемерово. Все обследованные заполняли анкеты, подписывали форму информированного согласия. Для изучения полиморфизма генов ферментов репарации ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли ДНК методом фенол-хлороформной экстракции и анализировали при помощи полимеразной цепной реакции синтеза ДНК. Генотипирование *rs 180151 ATM Asp1853Asn*, *rs 1805794 NBS Glu185Gln*, проводили с использованием метода «SNP-экспресс» и набора реактивов, разработанного НПФ «Литех» (г.Москва). Продукты полимеразной реакции анализировали методом электрофореза в 3% агарозном геле с бромистым этидием с последующей визуализацией фрагментов ДНК в ультрафиолетовом свете. Типирование SNP генов *rs 3218536 XRCC2 Arg188His* и *rs 861539 XRCC3 Thr241Met* проводили методом мультиплексной ПЦР с флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени (амплификатор iCycler iQ5 (Bio-Rad, США)), с помощью набора реактивов производства СибДНК (г.Новосибирск). Полученные результаты интерпретировали исходя из анализа графиков накопления флуоресценции, специфичность оценивалась с помощью кривой плавления. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA for Windows 8.0». Сравнение частот генотипов и аллелей проводили с помощью четырехпольной таблицы сопряженности критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность вариации. Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$. Силу ассоциации анализируемых признаков определяли с помощью величины отношения шансов (OR). Для исследования межгенных взаимодействий использовали метод Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) (<http://www.multifactorialdimensionalityreduction.org/>), который позволяет оценивать все возможные двухлокусные (2n), а также 3n, 4n-локусные модели комбинаций SNP.

Установлено, что в изученных выборках больных ПРЛ и здоровых доноров наблюдаемые частоты генотипов согласуются с данными литературы. При изучении распределения частоты встречаемости полиморфных локусов *ATM Asp1853Asn*, *NBS1 Glu185Gln*, *XRCC2 Arg188His*, *XRCC3 Thr241Met* в группах больных ПРЛ и здоровых лиц наблюдалось статистически значимое снижение частоты мажорного генотипа *Thr/Thr* ($n = 107$; $\chi^2 = 5,57$; $p = 0,0183$; $OR = 0,67$; $CI\ 95\%: 0,25-1,76$) и аллеля *Thr* ($n = 326(63,92\%)$; $\chi^2 = 7,46$; $p = 0,0063$; $OR = 0,71$; $CI\ 95\%: 0,26-1,86$) гена *XRCC3* у больных ПРЛ. Ген *XRCC3* (хромосомный локус 14q32.3) кодирует белок семейства *RecA/Rad51*, участвующий в гомологичной рекомбинации, поддерживает хромосомную стабильность путем репарации двухцепочечных разрывов ДНК [5]. Известно, что клетки, не содержащие активный белок *XRCC3* (кодируется аллелем *Met*), имеют дефекты ключевого фермента гомологичной рекомбинации *Rad51*, при этом наблюдается генетическая нестабильность, повышение чувствительности ДНК к повреждающим агентам и повышение риска рака [1].

При анализе распределений полиморфных локусов в группах, дифференцированных по гендерному признаку, наблюдались статистически значимые различия между ПРЛ и контролем у мужчин по генотипу *Thr/Thr* гена *XRCC3* ($OR = 0,63$; $CI\ 95\%: 0,23-1,67$; $\chi^2 = 6,28$; $p = 0,0122$). Ранние исследования генов репарации в развитии мультифакторных заболеваний оказались крайне противоречивыми. С одной стороны, выявлена достоверная ассоциация с развитием различных форм рака таких, например, как меланома, рак легких и рак молочной железы. С другой стороны, не обнаружена взаимосвязь с развитием патологий, более того было найдено протективное влияние данных аллельных вариантов [2].

Среди этиологических факторов рака легкого наибольшее внимание уделяется курению. Известно, что табачный дым содержит более 3800 химических веществ, многие из которых являются канцерогенными для человека. Фактор курения способен существенно модифицировать рисковую значимость генотипов [4]. В связи с этим был проведен анализ частот распределения генотипов генов *ATM Asp1853Asn*, *NBS1 Glu185Gln*, *XRCC2 Arg188His*, *XRCC3 Thr241Met* у больных ПЛР и здоровых лиц с наличием или отсутствием такой привычки, как курение. У некурящих отличий распределения генотипов и аллелей не было выявлено. В группе курящих пациентов было установлено повышение частоты встречаемости минорного генотипа *Met/Met* гена *XRCC3* ($OR = 2,07$; $CI\ 95\%: 0,78-5,43$; $\chi^2 = 4,04$; $p = 0,0444$). Анализ, выполненный в группе курящих мужчин позволил выявить статистически значимое отличие частоты встречаемости генотипа *Thr/Thr* ($OR = 0,63$; $CI\ 95\%: 0,24-1,64$; $\chi^2 = 4,69$; $p = 0,0394$). У женщин (курящих и некурящих) различий частоты встречаемости аллелей и генотипов выявлено не было.

При анализе межгенных взаимодействий выявлены наиболее информативные модели взаимодействий детерминирующие развитие ПРЛ для некурящих (*ATM(5557C>T)*, *XRCC3(722C>T)*), для курильщиков (*XRCC2(563G>A)*, *XRCC3(722C>T)*), мужчин курящих (*XRCC2(563G>A)*, *XRCC3(722C>T)*) и некурящих (*ATM(5557G>A)*, *XRCC3(722C>T)*), курящих женщин (*ATM(5557G>A)*, *NBS1(535C>G)*).

Проведенное исследование позволило выявить ассоциацию полиморфных вариантов гена *XRCC3* с риском плоскоклеточного рака легкого у жителей Западной Сибири и установить особенности его взаимодействия с другими ДНК локусами системы репарации двунитевых разрывов ДНК при формировании рака.

Исследование проведено при финансовой поддержке программы «УМНИК» по Кемеровской области.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Benhamou, S., Tuimala, J., Bouchardy, C. et al. (2004). DNA repair gene *XRCC2* and *XRCC3* polymorphisms and susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *Int J Cancer*, no. 112, pp. 901–904.
2. Lopez-Cima, F., Gonzalez-Arriaga, P. et al. (2007). Polymorphisms in *XPC*, *XPB*, *XRCC1* and *XRCC3* DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. *BMC Cancer*, no. 7, pp. 162-169.
3. Madeleine, M. M., Shera, K., Schwartz S. M. et al. (2000). The p53 Arg72Pro polymorphism, human papillomavirus, and invasive squamous cell cervical cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, no. 19, pp. 225-227.
4. Marcus, S. E. (2005). ASSIST-American Stop Smoking International Study for cancer prevention. Shaping the future of tobacco prevention and control. *NCI Tobacco control monographs series*, no.16.
5. Matullo, G., Palli D., Peluso M. et al. (2001). *XRCC1*, *XRCC3*, *XPB* gene polymorphisms, smoking and 32P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. *Carcinogenesis*, no. 9, pp. 1437-1445.
6. Qian, B., Zhang, H., Zhang, L. et al. (2011). Association of genetic polymorphisms in DNA repair pathway genes with non-small cell lung cancer risk. *Lung Cancer*, no. 73, pp. 138-146.
7. Ruyck, K., De., Szaumkessel, M., Rudder, I. et al. (2007). Polimorphisms in base-excision repair and nucleotide-excision repair genes in relation to lung cancer. *Mutat Res*, no. 28, pp. 101-110.

**ПОЛНОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ С
РАЗЛИЧНЫМИ ПОВЕДЕНЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИМИ
ДЕПРЕССИВНОЕ СОСТОЯНИЕ**

А.А. Садчиков, А.А. Студеникина, А.А. Полякова

Научный руководитель: к.м.н. Л.О. Брызгалов, Н.П. Бондарь

¹Новосибирский государственный медицинский университет

Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 52, 630091

²Федеральный Исследовательский Центр Институт Цитологии и Генетики СО РАН

Россия, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10, 630090

E-mail: a.a.sadchikov@list.ru

**GENOME-WIDE STUDIES OF THE RELATIONSHIP OF GENE EXPRESSION BY VARIOUS
BEHAVIORAL PARAMETERS CHARACTERIZING THE DOLBRUMS**

A.A. Sadchikov, A.A. Studenikina, A.A. Polyakova

Scientific Supervisor: L.O. Brizgalov, N.P. Bondar

¹Novosibirsk State Medical University

Russia, Novosibirsk, Krasnyi av., 52, 630091

²The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS

Russia, Novosibirsk, Lavrentiev av., 10, 630090

E-mail: a.a.sadchikov@list.ru

***Abstract.** Depression is a serious problem in modern society. Every year the number of people suffering from the disorder has been growing steadily, but the mechanisms of its development remain unclear. To study this disease, we used the model of depression in mice caused by chronic social stress. This work is focused on the discovery of genes associated with the development of depression and determination of correlation of their expression with the parameters of behavior in mice in the stage of deep depression. The mechanism of *Adra2a* gene expression changes has been studied in the development of depression in mice*

Актуальность. Депрессия - психическое расстройство, характеризующееся снижением настроения и утратой способности переживать радость, нарушениями мышления, двигательной заторможенностью. По данным ВОЗ, в настоящее время во всем мире более 350 миллионов человек страдают депрессией, что составляет 5% человеческой популяции, однако механизмы развития депрессивных расстройств остаются не выясненными. В Институте Цитологии и Генетики была разработана модель хронического социального стресса на животных, позволяющая изучать механизмы формирования депрессии. Целью данной работы было: обнаружить связь различных поведенческих параметров с экспрессией генов, используя данные полногеномного исследования транскриптома (RNA-seq), выявить гены, связанные с поведением и участвующие в формировании депрессивных расстройств. Исследовать модификации гистона H3 в

промоторном районе одного из таких генов - *Adra2a* в ответ на хронический социальный стресс у мышей линии C57BL/6/J.

Материалы и методы. Для формирования депрессивно-подобного состояния была использована модель хронического социального стресса (social defeat stress) [1,2]. Формирующееся состояние у животных по этиологии, симптоматике, лечению и изменениям в нейрохимических системах мозга сходно с депрессивным состоянием у человека [3]. В нашем эксперименте использовались две группы мышей линии C57BL/6/J, которые подвергалась социальному стрессу различной длительности - в течение 10 дней (группа S10, стадия развития депрессии, характеризующийся рядом обратимых изменений поведения) и 30 дней (группа S30, стадия глубокой депрессии). Животные содержались попарно в клетках, разделенные перегородкой. Ежедневно на 10 мин перегородку убрали, что приводило к агрессивной конфронтации, в результате чего одно животное приобретало статус жертвы и у него развивалось депрессивное состояние. В дальнейшем, все животные были исследованы в поведенческих тестах (тест на ангедонию, коммуникативное поведение, тревожность, депрессивность), в которых суммарно регистрировалось 57 параметров, отражающих различные аспекты психофизиологического состояния животного [4,5]. У каждого животного были взяты образцы фронтальной коры. Из полученных образцов была выделена РНК и приготовлены библиотеки для полногеномного секвенирования транскриптома (RNA-seq), с использованием прибора массового параллельного секвенирования (Hi-seq2000 Illumina). В результате получено множество коротких прочтений (reads), ≈ 34 миллионов для каждой мыши. С помощью программы TopHat было произведено картирование полученных последовательностей на геном мыши *Mus musculus* сборки mm9 (Ensemble release 67). Анализ дифференциальной экспрессии проводился с использованием пакета DESeq2. Для оценки достоверности использовали поправку Бенжамини-Хохберга для множественных сравнений ($\text{adj } p \text{ value} < 0.05$). Для изучения промоторных районов был выбран метод иммунопреципитации хроматина (ChIP) с антителами к гистону H3K4me3, которые являют наиболее распространенными метками активного хроматина и показывают регуляторную активность промотора. По характеру изменения таких меток, можно судить об изменении регуляции экспрессии гена в целом. В результате были получены фракции ДНК, обогащенные по участкам активных промоторов. Анализ обогащения проводили с использованием PCR в реальном времени

Результаты. С использованием критерия Пирсона была посчитана корреляция поведенческих параметров с экспрессией генов. Достоверность проверялась с использованием поправки на множественное сравнение Бенжамини-Хохберга. В результате определено 256 генов достоверно коррелирующих хотя бы с одним поведенческим параметром. Аннотация генов с использованием базы данных KEGG, выявила среди генов коррелирующие с поведенческими параметрами, группу, участвующую в развитии нейродегенеративных заболеваний (болезни Хантингтона, Альцгеймера и Паркинсона). Анализ показал достоверное обогащение нашей выборки такими генами. Таким образом, можно заключить, что выборка генов связанных с поведением обогащена генами, участвующими в формировании паталогических состояний. Кластерный анализ с использованием экспрессии генов коррелирующих с поведенческими параметрами показал, что эти параметры также кластеризуются и по психофизиологическим характеристикам, которые данные параметры отражают. В дальнейшей работе мы исследовали участие

обнаруженных нами генов в формировании депрессивных расстройств. При анализе изменения профиля экспрессии при формировании депрессивного расстройства мы обнаружили, в том числе и гены, связанные с поведением. Для анализа мы выбрали ген *Adra2a* (Adrenoceptor Alpha 2A), показавший повышенную экспрессию в группе C10 и связанный с параметром поведения “замирание без агрессора”. Одной из причин изменения экспрессии может являться изменение эпигенетического статуса промоторной области данного гена. Наше исследование модификации гистона H3 в промоторном регионе гена показало, что социальный стресс в течение 10 дней приводит к увеличению метилирования гистона в промоторе гена *Adra2a*, что хорошо соотносится с тем, что экспрессия гена *Adra2a* изменялась после 10 дней стресса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kudryavtseva, N.N., Vakshtanovskaya, I.V., Koryakina, L.A. (1991). Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol Biochem Behav*, no. 38, pp. 315–320.
2. Kudryavtseva, N. N.(1991). The sensory contact model for the study of aggressive and submissive behaviors in male mice. *Aggress Behav*, no. 17 (5), pp. 285–291.
3. Августинович Д.Ф., Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н. Модель тревожной депрессии: персистентность патологии поведения // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. – 2004. – Т. 90, № 10. – С. 1235–1245. Переведена в *Neurosci. Behav. Physiol.* 2005. 35(9):917–924.
4. Кудрявцева Н.Н., Августинович Д.Ф., Коваленко И.Л., Бондарь Н.П. Развитие ангедонии под влиянием негативного опыта социальных взаимодействий у самцов мышей // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. – 2006. – Т. 92, № 3. – С. 351–361
5. Petit–Demouliere, B., Chenu, F., Bourin, M. (2005). Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology. (Berl)*, no. 177, pp. 245–255.

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ
СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА В УСЛОВИЯХ
СВЕРХНОРМАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ РАДОНА**

О.А. Соболева, А.В. Рыжкова

Научный руководитель: доцент, к.б.н. В.И. Минина

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский
центр угля и углекислоты Сибирского отделения Российской академии наук»

Россия, г.Кемерово, пр. Советский, 18, 650000

E-mail: soboleva.olga88@yandex.ru

**ASSESSMENT OF INFLUENCE HUMAN ANTIOXIDANT ENZYME GENE POLYMORPHISMS TO
GENOME INSTABILITY MARKERS WITH EXCESSIVE EXPOSURE TO RADON**

O.A. Soboleva, A.V. Ryzhkova

Scientific Supervisor: Associate professor, Candidate of biological science V.I. Minina

Federal State Budget Scientific Institution «The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences»

Russia, Kemerovo, Soviet str., 18, 650000

E-mail: soboleva.olga88@yandex.ru

***Abstract.** The frequency and spectrum of chromosome abnormalities in students of the boarding school of Tashtagol are investigated. Increased level of chromosomal aberrations are revealed, demonstrating the existence of pronounced genotoxic effects of radon. The highest level of chromosomal aberrations was found in carriers of the genotype SOD2 Ala/Ala*GPx1 Leu/Leu*CAT T/T in Tashtagol. In the control group, significant association of polymorphisms of antioxidant genes with a level of chromosomal aberrations has not been revealed.*

Геном человека постоянно подвергается воздействию генотоксических и мутагенных факторов, приводящих к нарушению его стабильности с сопутствующим возникновением точечных мутаций и хромосомных aberrаций (ХА). Рядом экспедиционных выездов кафедры генетики КемГУ в г.Таштагол Кемеровской области (2007-2011 гг.) была выявлена повышенная удельная объемная активность радона (УОАР), в воздухе жилых и учебных помещений школы-интерната, где обучаются дети и подростки – наиболее радиочувствительная категория населения.

В настоящее время выявлена взаимосвязь между индивидуальными адаптивными способностями организма, т.е. особенностями генома, и его радиочувствительностью. Роль полиморфизма генов репарации ДНК, систем биотрансформации ксенобиотиков в этом аспекте на данный момент уже достаточно широко описана, в отличие от генов ферментов антиоксидантной системы (АОС), к числу которых относятся гены семейства супероксиддисмутаз (SOD1 – SOD3), глутатионпероксидаз (GPx-1 – GPx-8) и каталаза.

Целью данного исследования являлась оценка вовлеченности генов ферментов АОС человека в хромосомный мутагенез, индуцированный сверхнормативным воздействием радона.

Тотально исследованием было охвачено 473 человека. Непосредственно группу для исследования составили 312 человек в возрасте от 8 до 18 лет, из них – 160 мальчиков (средний возраст $12,8 \pm 0,21$) и 152 девочки (средний возраст $12,7 \pm 0,20$), постоянно проживающих и обучающихся в школе-интернате г.Таштагол, и подвергающиеся хроническому воздействию сверхнормативных доз радонового излучения. Группу сравнения общим количеством 161 человек составили 73 мальчика от 9 до 18 лет (средний возраст $13,9 \pm 0,30$) и 88 девочек от 8 до 19 лет (средний возраст $14,7 \pm 0,27$), проживающих в условиях фонового уровня излучения радона. В то время, как в группе сравнения были представители исключительно европеоидной расы, в группе детей г.Таштагола по этническому составу были выделены шорцы – 209 человек (67%), европеоиды – 62 человека (20%) и метисы (шорцы-русские) – 41 человек (13%). Все обследуемые были условно здоровы и проинформированы о целях и результатах исследования, а так же не подвергались вакцинированию и медицинскому облучению на протяжении трех месяцев, предшествующих сбору материала для анализа.

Замеры УОАР выполнялись с использованием радиометра РРА-01 М-01 «Альфарад» в режиме *Air 1* и сравнивались с показателями УОАР, приведенными в нормативно-методической документации Минздрава России (2003) и Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (2009). Генотоксические эффекты воздействия радона изучали с помощью метода учета ХА в кратковременных культурах лимфоцитах периферической крови. Подготовку препаратов метафазных хромосом и анализ ХА осуществляли с использованием стандартных методик [1,2]. Для изучения полиморфизма генов АОС (*rs 4880 SOD2 Val16Ala*, *rs1050450 GPx-1 Pro198Leu* и *rs1001179 CAT C262T*) выделяли ДНК методом фенол-хлороформной экстракции и анализировали при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени – для генов *SOD2* и *GPx-1*, и с помощью аллель-специфичной ПЦР с электрофоретической детекцией результатов в 3% агарозном геле при исследовании полиморфизма гена каталазы.

Статистический анализ первичных данных проводили с помощью программы *STATISTICA for WINDOWS v.6.0*. Оценку достоверности различий в распределении полиморфных вариантов проводили стандартным методом χ^2 с поправкой Йетса. Для сопоставления групп использовали *U*-критерий Манна-Уитни. При множественных сравнениях достоверным уровнем значимости считали $p < 0,01$.

В результате замеров УОАР в помещениях школы-интерната г.Таштагол и на территории постоянного проживания детей и подростков из группы сравнения, было выявлено значимое превышение данного показателя в воздухе помещений школы-интерната. В среднем уровень УОАР здесь составил $479,71 \text{ Бк/м}^3$, в зимние периоды достигая 1400 Бк/м^3 .

При сопоставлении значений цитогенетических показателей, характеризующих уровень мутагенных эффектов, были выявлены статистически значимые различия частот встречаемости ХА между исследуемой и контрольной группами. Так, средняя частота ХА в группе детей г. Таштагола составила $4,35 \pm 0,14$ против $2,64 \pm 0,12$ в контрольной выборке ($p < 0,001$). Были выявлены статистически значимые различия по частоте встречаемости aberrаций как хроматидного ($3,00 \pm 0,12$ против $1,99 \pm 0,09$; $p < 0,001$), так и хромосомного типа ($1,35 \pm 0,06$ против $0,65 \pm 0,05$; $p < 0,001$) – признанного маркера воздействия радиации.

Анализ распределения частот генотипов исследуемых генов в обеих группах показал соответствие частотному распределению согласно закона Харди-Вайнберга, за исключением гена *CAT* в группе детей, экспонируемых сверхнормативными дозами радона, где отклонение было обусловлено избытком гомозигот по мажорному аллелю ($\chi^2=11,21$; $p<0,05$), достигающемуся за счет этнической особенности распределения частот генотипов в популяции шорцев, где частота встречаемости генотипа *C/C* составила 86,1% против 51,6% - у европеоидов ($p<0,001$). В остальных случаях статистически значимых различий по частотам распределения генотипов изученных генов между этносами внутри исследуемой группы выявлено не было.

При анализе распределения частот встречаемости генотипов полиморфизмов генов АОС, и их ассоциаций с ХА было выявлено статистически значимое повышение уровня ХА у носителей всех вариантов генотипов генов *SOD2*, *GPx-1* и *CAT* из школы-интерната по сравнению с контрольной выборкой ($p<0,001$). Максимальная частота встречаемости ХА была отмечена в подгруппе метисов из г.Таштагол – обладателей генотипа *C/C* по гену каталазы ($5,65\pm 0,63$ на 100 метафаз) и носителей генотипов *Val/Val* и *Val/Ala* по гену *SOD2* ($5,47\pm 0,79$ и $5,03\pm 0,57$ на 100 метафаз соответственно). В контрольной группе максимальная частота ХА была выявлена у носителей генотипа *Ala/Ala SOD2* и составила $2,83\pm 0,22$ на 100 метафаз, что ниже минимального уровня частоты ХА ($p<0,05$), зарегистрированного в подгруппе европеоидов из г.Таштагола – носителей генотипа *Val/Val SOD2* ($3,15\pm 0,55$ на 100 метафаз).

В исследуемой группе были выявлены пороговые значения уровня статистической значимости aberrаций хромосомного типа у носителей генотипа *TT* гена каталазы по сравнению с гомозиготами по мажорному аллелю (генотип *CC*) $p=0,012$. При изучении полиморфизма генов *SOD2* и *GPx-1* наибольший уровень aberrаций хромосомного типа также наблюдали у доноров – гомозигот по мутантному аллелю (носителей генотипов *Ala/Ala* гена *SOD2* и *Leu/Leu* гена *GPx-1*), причем частота aberrаций хромосомного типа – маркера воздействия радиации, возрастала в ряду *A/A – A/B – B/B*, где *A* – мажорный аллель, *B* – минорный. Наибольший уровень ХА обнаружен у обладателей генотипа *SOD2 Ala/Ala*GPx1 Leu/Leu*CAT T/T*.

В контрольной группе значимых ассоциаций полиморфизмов генов АОС человека с уровнем ХА с учетом множественного сравнения выявлено не было.

Таким образом, нельзя не учитывать индивидуальные особенности генов АОС человека при рассмотрении вопросов радиочувствительности, т.к., согласно проведенному исследованию, именно носители мутантных аллелей генов АОС в наибольшей степени подвержены негативному воздействию радона, что находит свое отражение в увеличении частоты встречаемости ХА, в первую очередь хромосомного типа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hungerford, P. (1965). Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. *Stain Technologies*, no. 40, pp. 333–338.
2. Бочков Н. П., Чеботарев А. Н., Катосова Л. Д., Платонова В. И. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // *Генетика*. – 2001. – Т. 37. № 4. – С. 549–557.

**К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА
МИКРООРГАНИЗМЫ**

Д.И. Сумина

Научный руководитель: к.пед.н. Е.Н. Майнагашева

Муниципальное бюджетное образовательное учреждение «Средняя общеобразовательная школа №25»

Россия, г.Абакан, ул.Тельмана 93, 655017

E-mail: dashasum@list.ru

**STUDY ON THE PROBLEM INFLUENCE OF ELECTROMAGNETIC FIELDS ON
MICROORGANISMS**

D.I. Sumina

Scientific Supervisor: Ph.D. E.N. Mainagasheva

Secondary school №25, Russia, Abakan, Telmana str.,93, 655017

E-mail: dashasum@list.ru

***Abstract.** The paper presents experimental data on the effects of electromagnetic fields of direct and alternating current, and gamma radiation on microorganisms. It was revealed that in the area of influence of the number of microorganisms is reduced, or they are non-existent.*

С развитием цивилизации, существующие естественные поля (электрическое и магнитное поле Земли) дополнились электромагнитными полями (ЭМП) и излучениями антропогенного происхождения, которые стали играть важную роль в развитии всего живого на Земле. Согласно научной терминологии электромагнитное поле — это фундаментальное физическое поле, взаимодействующее с электрически заряженными телами, является совокупностью электрического и магнитного полей, которые могут при определённых условиях порождать друг друга. ЭМП характеризуется векторами напряжённости электрического E (В/м) и магнитного H (А/м) полей, частотой f (Гц) и длиной волны λ (м). Длина волны связана с частотой, при этом с увеличением частоты уменьшается длина волны. Вокруг электромагнитного источника в зоне индукции на расстоянии $\sim 1/6$ длины волны ($\lambda/2\pi$) возникает электромагнитное поле ЭМП, в дальней волновой зоне, которая начинается на расстоянии равном ~ 6 длинам волн ($\lambda \cdot 2\pi$), поле преобразуется в электромагнитное излучение ЭМИ и существует уже независимо от источника [3].

Еще в 1995 году Всемирной организацией здравоохранения был введен термин «глобальное электромагнитное загрязнение окружающей среды» и данная проблема была включена в перечень приоритетных для человечества. Сегодня учеными мира ведутся исследования, направленные на установление степени влияния ЭМП и излучений на биологические системы. Цель данного исследования заключалась в изучении воздействия магнитных полей постоянного и переменного тока промышленной частоты на микроорганизмы.

В качестве объекта исследования использовались поля постоянного и переменного токов, а также γ – излучение. Лабораторные исследования проводились в лаборатории Хакасского государственного

университета им. Н.Ф. Катанова. Посев микроорганизмов проводили седиментационным методом на питательную среду (мясо-пептонный агар) в чашки Петри. Расчет общемикробного числа проводили по формуле В.Л. Омелянского [1]. С целью изучения степени воздействия магнитного поля переменного и постоянного тока были использованы цепи состоящие: в первом случае из источника, катушки индуктивности, амперметра и вольтметра, а во втором источника тока, катушки индуктивности, миллиамперметра и реостата. В качестве источника гамма-излучения был взят изотоп кобальта ^{60}Co . При изучении влияния электромагнитных полей и γ – излучения посев осуществляли в радиусе влияния фактора в трех вариантах и трехкратной повторности. В первом опыте посев микроорганизмов производили непосредственно в магнитном поле (переменного, постоянного тока), гамма-излучения в течение 10 минут. При втором и третьем опыте посев проводили вне поля воздействия в течение 10 минут, после чего закрывали крышку и помещали чашки Петри в магнитное поле на 10 (второй вариант) или 5 (третий вариант) минут.

Все бытовые приборы, работающие с использованием электрического тока, являются источниками электромагнитных полей, даже находясь в выключенном состоянии, а создаваемое ими ЭМП может сильно различаться. Например, уровень магнитного поля промышленной частоты (50 Гц) на расстоянии 0,3 м для пылесоса лежит в границах от 0,2 до 2,2, а для микроволновой печи от 4 до 12 мкТл [4]. В нашем случае расчетные значения амплитуды магнитной индукции для переменного тока равны ≈ 35000 мкТл, для постоянного 0,2 мкТл. Можно отметить, что для переменного тока её значения превышают в несколько раз табличные, что может указывать на возможность существования такой индукции только в промышленности. Полученные данные для постоянного тока соответствуют значениям магнитной индукции таких бытовых приборов как утюг, пылесос и т.д.

Результаты исследования по воздействию электромагнитных полей и гамма- излучения на микроорганизмы отражены в таблице 1. Видно, что при проведении посева непосредственно в поле переменного тока колоний микроорганизмов не выросло, во втором и третьем варианте выросло 2 и 1 колонии соответственно, что более чем в 10 раз меньше чем в контрольной чашке Петри. Можно наблюдать, что во всех трех вариантах при посеве в зоне влияния ЭМП постоянного тока колоний микроорганизмов не обнаружено. Исходя из полученных данных, можно предположить, что значение магнитной индукции не является определяющим фактором, оказывающим влияние на микроорганизмы при проведении наших опытов.

Таблица 1

Характеристика колоний микроорганизмов и значение ОМЧ при посеве воздуха в зоне влияния электромагнитных полей

| Фактор | Характеристика колоний | | | | | | ОМЧ |
|----------------------|------------------------|----------|--------|------------|-----------------|--------------------|-------|
| | количество, шт. | форма | край | размер, см | цвет | поверхность | |
| Вариант 1 | | | | | | | |
| МП прт ** | - | - | - | - | - | - | - |
| МП пст * | - | - | - | - | - | - | - |
| γ - излучение | 3 | округлая | ровный | 0,4 | желтый | гладкая, блестящая | 382,2 |
| Вариант 2 | | | | | | | |
| МП прт | 2 | округлая | ровный | 0,2- 0,5 | голубой, желтый | гладкая, блестящая | 254,7 |

| | | | | | | | |
|-------------------|----|----------|--------|----------|---|--------------------|--------|
| МП _{пст} | - | - | - | - | - | - | - |
| γ - излучение | 3 | округлая | ровный | 0,2- 0,7 | желтый, черный, белый | гладкая, блестящая | 382,2 |
| Вариант 3 | | | | | | | |
| МП _{прт} | 1 | округлая | ровный | 0,3 | желтый | гладкая, блестящая | 127,3 |
| МП _{пст} | - | - | - | - | - | - | - |
| γ - излучение | 2 | округлая | ровный | 0,3-0,4 | белый | гладкая | 254,7 |
| Контроль | 27 | округлая | ровный | 0,2- 0,7 | белый, желтый, оранжевый, св.коричневый | гладкая, блестящая | 3439,4 |

*МП_{пст} – магнитное поле постоянного тока; **МП_{прт} – магнитное поле переменного тока

В результате эксперимента по изучению гамма- излучения было получено, что во всех трех вариантах колонии микроорганизмов присутствовали, хотя и в небольшом количестве. Нужно отметить, что на сегодняшний день у ученых нет единого мнения по поводу механизма воздействия ЭМП на живые объекты. Обобщив данные научной литературы можно предположить одну (или несколько) причину негативного воздействия ЭМП на микроорганизмы: во- первых, количество микроорганизмов сокращается, либо они погибают за счет преобразования энергии ЭМП в тепловую, что приводит к разрушению клеток. Во- вторых, под действием ЭМП атомы выстраиваются в цепочки параллельные электрическим силовым линиям, за счет образования диполей. При этом также происходит нарушение структуры клетки. Что может привести к её гибели [5]. В – третьих, данный факт многие физики объясняют влиянием силы Лоренца, под действие которой частицы просто выбрасывает из поля, применительно к микроорганизмам это значит, что они не могут осесть на питательную среду[6].

Таким образом, было выявлено, что ЭМП постоянного и переменного тока, а также гамма излучение оказывают достаточно мощное воздействие на микроорганизмы: в зоне их влияние количество микроорганизмов сокращается, либо они вовсе отсутствуют.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Водолазова С. В. Практикум по микробиологии: учебное пособие.– Абакан: Издательство ГОУ ВПО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», 2010. -88 с.
2. Афанасьев Ю.В., Студенцов Н.В., Хорев В.Н., Чечурина Е.Н., Щелкин А.П. Средства измерений параметров магнитного поля. - Москва. «Книга по требованию. Ленинградское отделение», 1979. -320 с.
3. Недосекин Ю.А. Природа пространства и физических полей: статья из книги Доклады независимых авторов, выпуск №2. – Россия – Израиль, 2005. – 161с.
4. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа. – Москва «Издательство «Наука» », 1968. -289с.
5. Федорович Г.В. Экологический мониторинг электромагнитных полей: учебное пособие. – Москва, 2004. – 140с.
6. Электронный ресурс: http://www.it-med.ru/library/ie/el_magn_field.htm . Дата обращения 19.01.2016г.

**COLORIMETRIC SENSORS FOR HEPARIN DETECTION BY TOLUIDINE BLUE AND
MALACHITE GREEN DYES**

E.V. Sukhoroslova, O. Yu. Zyuikova, M.S. Polonskiy

Scientific Supervisor: Assoc. Prof., Cand. Sc. M.A. Gavrilenko

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: dce@mail.ru

**КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ НА ГЕПАРИН С КРАСИТЕЛЯМИ
ТОЛУИДИНОВЫЙ СИНИЙ И МАЛАХИТОВЫЙ ЗЕЛЕНЫЙ**

Е.В. Сухорослова, О.Ю. Зуйкова, М.С. Полонский

Научный руководитель: доцент, к.х.н. М.А. Гавриленко

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: dce@mail.ru

***Аннотация.** Мониторинг гепарина в крови используется для контроля дозировки препаратов и для оценки достаточности антикоагулянтной терапии. При курсовом приёме препаратов, содержащих гепарин, сопряженных с риском кровотечения и опасностью передозировки рекомендуется проводить лабораторный контроль терапии при слабой и умеренной почечной недостаточности, при пониженной массе тела или ожирении, при кровотечениях неясного генеза. Рассмотрена количественная сорбция различных форм толуидинового синего и малахитового зеленого, сорбированных на полиметакрилатной матрице в качестве чувствительного элемента при определении концентрации гепарина в растворах. Чувствительный полимерный элемент использовали для определения гепарина в растворах с концентрациями 50–210 мг/л. Показано, что коэффициенты чувствительности сорбционного фотометрического определения красителя пропорциональны значениям их молярных коэффициентов поглощения в водных растворах. Пределы обнаружения могут быть снижены на порядок при увеличении объема раствора на стадии сорбции и, соответственно, увеличения объема чувствительного элемента. При концентрациях свыше 10^{-5} моль/л возможно визуальное полуколичественное детектирование гепарина в растворе по снижению и исчезновению окраски красителя в полимерной матрице.*

Currently sorption-optical methods are developed successfully. These include concentration of substances from the liquid phase on the sensitive element which is accompanied with a change in spectral characteristics in the visible diapason. We have examined the quantitative sorption of various forms of toluidine blue (TB) and malachite green (MG) adsorbed on polymethylmethacrylate matrix (PMM) in the process of determination of the heparin concentration in a solution. Polymethylmethacrylate (PMMA), one of the commonly used polymers, is widely used to fabricate optical analytic systems. There have been advantages for the application of PMMA in analysis due to such properties as hydrophobicity and compatibility with additives. Bulk modification is an effective way to improve the analytical properties while retaining the transparent properties of the polymer.

Various modifications of the PMMA matrix have been obtained using different techniques like physical adsorption, biomolecule adsorption, chemical modification and so on [1-3]. The extraction mechanism is based on the PMM role as a solid polymeric extractant. In accordance with this mechanism, organic molecules sorbed into hydrophobic PMM. PMMA have unique advantages over other polymers, for their physical and chemical properties can be easily changed by molecular design.

The introduction of polyethylene glycol (PEG) into the PMMA has attracted considerable attention as a means of minimizing waste sorption, because of their low interfacial energy, non-adhesive property and high diffusion. The technique was described [4] where PEG was immobilized into PMM on polymerization stage.

Combined matrix PMMA and PEG, having a polymethacrylate backbone and hydrophilic PEG chains, has been synthesized and applied for the design of transparent color sensors. The properties of the new modified PMM such as attachment, functionality, and sorption properties are characterized by various techniques.

The results of investigation of dyes sorption into transparent matrix are used in the field of technology for sensors, catalysis, analytical chemistry and drug discovery. A large number of experimental studies of dyes sorption to various sorbents have been performed in order to understand the underlying mechanism of the sorption process. This simple method allows the study of a wide range of PMMA-PEG polymers with well-defined the optical sensor properties.

PMMA was synthesized via free radical block polymerization, using benzoyl peroxide as initiator. The structure of the dye is shown in Fig. 1. Immobilization of analytical reagents into a polymeric matrix has been carried out in a static mode. The solution was placed in a constant temperature bath and stirred with the help of a stirrer at 120 rpm.

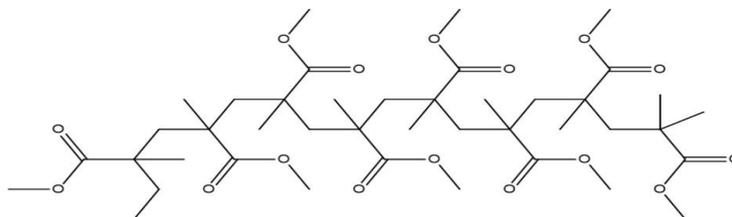


Fig. 1. Structure of the PEG-PMMA matrix

Sorption of dyes into PMM depends on the nature, structure and polarity. Increasing the degree of extraction of hydrophobic dyes with increasing evidence of the significant role of hydrophobic interactions between the sorbent and sorbate. Equilibrium sorption time and degree of dye extraction depend on the forms of its existence in the solution.

The molecular form of the dye was sorbed by PMM completely and 40% of the anionic form was sorbed during 15–20 minutes. The sorption of neutral and charged forms of TB on the concentration in the aqueous solutions with pH 4 was researched. The equilibrium concentration of the dye, the recovery rate and the value of limiting sorption were calculated in this work. Both neutral and charged forms of TB in low concentrations ($<10^{-6}$ M) were sorbed completely. The ionic form of the dye was sorbed on 50 % and neutral form on 90 % at concentrations $> 10^{-5}$ M. The optimal pH was below 4.0 because the proteins anionic groups (carboxyl group complicate the interpretation of results greatly) lose their charge. TB binds with nucleic acids at pH 3.0.

Sensitive polymer element with TB immobilized was used to determine concentrations of heparin in the solutions with 50-210 mg/L. Response factors for sorption-photometric determination of dye was proportional to the value of the molar absorption coefficients in aqueous solutions. Detection limits can be reduced by increasing the volume of the solution or increase the sensing element.

Semiquantitative visual detection is possible in a solution of heparin at concentrations above 10^{-5} mol/L. This shows as decrease or disappearance of the TB color into PMM (Fig. 2).

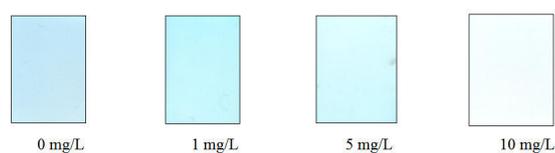


Fig. 2. The visual response to the presence of various concentrations of heparin

MG also triphenylmethane dye is highly soluble in water and used as a therapeutic agent. MG dye is used extensively in medical diagnostic. Previously MG has been analyzed using spectrophotometry, HPLC-MS and capillary electrophoresis. Selective solid phase extraction is not used for MG from biological samples of fluids before. A method for the trace analysis of MG with colorimetric measurements based on solid-phase extraction (SPE) by transparent PMM is described for TB. The investigation was aimed to study the adsorption capacity of PMM for MG removal from aqueous solutions for the solid phase extraction of MG, different parameters such as adsorbent dose, effect of pH, initial dye concentration and contact time.

The quantity of sorbed PMM reagent is proportional to intensity of its painting and it depends on conditions of modification: pH, concentration of the reagent in solution and durations of processing. The kinetic profiles of sorption at different temperatures are similar. This suggests that the sorption mechanism is mainly due to the formation of an inclusion complex through host-guest interactions.

Solid-phase extraction on PMM allowed a 290-fold enrichment of the dyes if 10 mL sample volume is used with extraction efficiencies 92 %. The method enables the determination of MG to 0.1–5 $\mu\text{g/L}$ combined with a fast and easy sample-preparation (pH-adjusting prior to SPE). Extraction and determination of MG in biological liquid samples confirmed the applicability and reproducibility of the method. Batch adsorption results indicated that Langmuir isotherm described the adsorption isotherms better.

This work was supported by the Russian Science Foundation project 14-19-00926.

REFERENCES

1. McDonagh, C., Burke, C.S., MacCraith, B.D. (2008) Optical chemical sensors. Chem Rev. no 108, pp 400–422.
2. Gavrilenko, M.A., Kirsanova, I.V., Gavrilenko, N.A., Gazieva, E.A. (2015) Effect of PEG immobilized into a polymethacrylate matrix on the sorption of rhodamine. Procedia Chemistry. no 15, pp. 21–26.
3. Gavrilenko, M.A., Gavrilenko, N.A., Saranchina, N.V. (2014) Polymethacrylate colorimetric sensor for evaluation of total antioxidant capacity. Procedia Chemistry. no 10, pp. 97–102.
4. Kim, H.N., Guo, Z., Zhu, W., Yoon, J., Tian, H. (2011) Recent progress on polymer-based fluorescent and colorimetric chemosensors, Chem. Soc. Rev. no 40, pp. 79–93.

**ВОЗМОЖНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ О-ФТОРБЕНЗОНАЛА (ГАЛОНАЛА) МЕТОДОМ
ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ**

Б.С. Темиргали, О.Л. Мезенцева

Научный руководитель: профессор, д.х.н. Г.Б. Слепченко

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: Temirgalieva@mail.ru

**THE POSSIBILITY TO DETERMINE O-FLUORINEBENZONAL (GALONAL) BY
VOLTAMMETRIC METHOD FOR MEDICAL DIAGNOSTIC PURPOSES**

B.S. Temirgali, O.L. Mezentseva,

Scientific Supervisor: Prof., Dr. G.B. Slepchenko

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: Temirgalieva@mail.ru

***Abstract.** Data about voltammetric determination of drug o-fluorinebenzonal (galonal) was presented in this publication. Operating conditions were defined and the dependences of the diffuse power with the acid index of background electrolyte from time and savings potential were showed. The correctness of methods for determining was evaluated.*

В медицинской диагностике для определения органических веществ в биологических объектах и фармацевтических препаратах существуют несколько стандартных методов, наиболее используемые из которых хроматографические методы, иммуноферментный анализ. В последнее время распространение получают электрохимические методы анализа, в том числе и вольтамперометрия. Достоинствами метода являются: использование малых объемов проб, необходимых для анализа, большим количеством автоматизированных комплексов, возможность анализа смеси веществ.

О-фторбензонал (галонал) - отечественный препарат, обладающий противозипилептической активностью. Наряду с этим, оказывает противоаритмическое и иммуномодулирующее действие, является индуктором цитохром-Р450-зависимой монооксигеназной системы печени. В связи с этим препарат может использоваться в качестве гепатопротекторного средства при внепеченочном холестазае, отравлении различными агентами, при алкоголизме [1,2]. Помимо этого, под влиянием барбитуратов ускоряется биотрансформация стероидных гормонов, желчных кислот, витаминов Д, К и фолиевой кислоты, что приводит к гиповитаминозу при совместном назначении. Необходим контроль содержания барбитуратов в организме, из-за их способности кумуляции. В литературе приводится методика одновременного определения галонала, фенобарбитала, карбамазепина и галодифа в сыворотке крови методом микроколоночной ВЭЖХ [3]. Недостатками данного метода является высокая стоимость оборудования, сложность пробоподготовки, длительное время анализа. Поэтому актуальной задачей стало создание методики для определения о-фторбензонала в биологических объектах для целей медицинской диагностики, являющейся экспрессной, простой в исполнении.

Целью работы является оценка возможность определения о-фторбензонала методом вольтамперометрии в различных биологических объектах (кровь, моча, слюна) в медицинской диагностике.

Нами была рассмотрена возможность использования метода инверсионной вольтамперометрии для количественного определения о-фторбензонала. На рисунке 1 представлена вольтамперограмма электровосстановления о-фторбензонала, растворенного в диметилформамиде (ДМФА), полученного в дифференциально–импульсном режиме на фоне 0,1 М дигидрофосфата натрия с использованием стеклоглеродного электрода в качестве рабочего, по отношению электроду сравнения насыщенному хлоридсеребряному электроду. Накопление производилось при потенциале -0,8 В в течение 30 с.

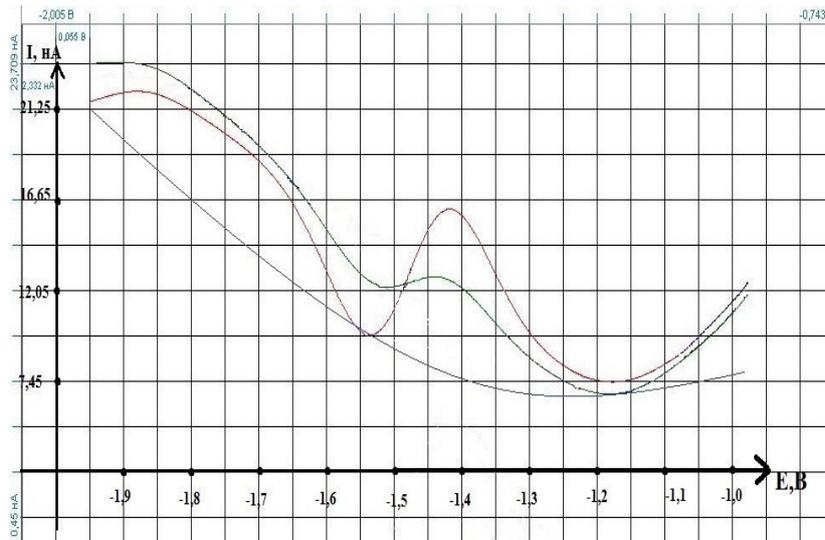


Рис.1. Вольтамперограмма о-фторбензонала на фоне 0,1 М NaH_2PO_4

Для улучшения чувствительности аналитического сигнала вольтамперометрических измерений были проведены исследования использования трехэлектродной электрохимической системы. В качестве вспомогательного электрода использовали: платиновый, стеклоглеродный или хлоридсеребряный электроды. При использовании вспомогательных электродов увеличение аналитического сигнала не наблюдалось, поэтому в дальнейших исследованиях использовали двухэлектродную систему.

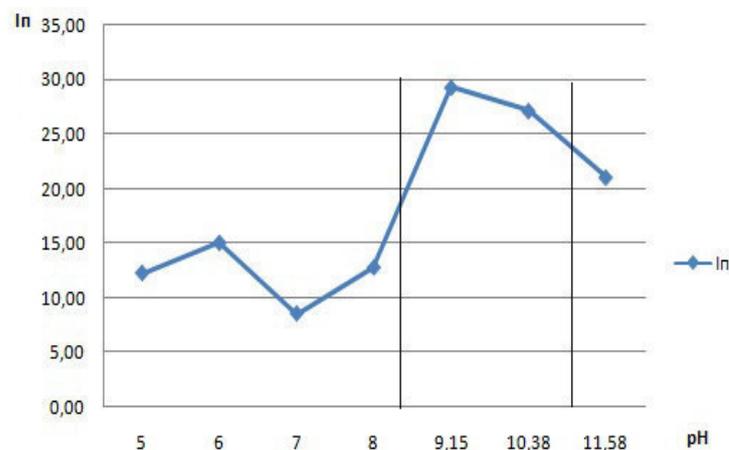


Рис.2. Влияния pH фонового электролита на величину тока пика

Так как биологические объекты имеют различные значения рН, нами было исследовано влияния кислотного показателя фонового электролита на величину тока пика. Наибольший аналитический сигнал наблюдается в щелочных растворах при значениях рН = 9,0-10,0 (Рис. 2).

Далее были исследованы зависимости величины тока от потенциала и времени накопления. Наибольший аналитический сигнал был получен при потенциале -1,0В и времени накопления 35сек.

Для целей медицинской диагностики определения о-фторбензола (галонала) нами проработана схема пробоподготовки, которая включает в себя следующие этапы: экстракция органическим растворителем, сублимация, реэкстракция с изменением рН.

Проведена оценка правильности вольтамперометрическое определение о-фторбензола (галонала) на модельных растворах. Модельный раствор приготовлен из дистиллированной воды с добавлением минеральных солей по составу и количеству приближенного к физиологическому раствору. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Оценка правильности определения о-фторбензола (галонала)

| № | Проба | Содержание о-фторбензола(галонала), мг/дм ³ | | |
|---|---|--|---------|------------|
| | | В пробе | Введено | Найдено |
| 1 | Модельный раствор | Менее 0,001 | 2,00 | 2,00±0,02 |
| 2 | Модельный раствор с добавкой 10,0 мг/дм ³ | 9,98±0,06 | 10,00 | 20,02±0,11 |

Нами показано возможность использования вольтамперометрического определения о-фторбензола (галонала) в широком диапазоне концентраций, с погрешностью, не превышающей 5-7%, в различных биологических объектах для целей медицинской диагностики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Новожева Т.П., Чурсина И. Э., Новожева А. В., Саратиков А. С.//Химико-фармацевтический журнал. -2004.- Т. 38.- № 1. С. 3-4.
2. Саратиков А.С., Новожева Т.П., Ахмеджанов Р.Р. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2002.- Т.38.- № 9. С. 308.
3. Окуджава В. М.//Журнал аналитической химии.- 1990.- Т. 45.- № 8.-С. 1641-1651.

**ЭКСТРАКТ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (SORBUS AUCUPARIA L.) В КОМПЛЕКСНОЙ
ТЕРАПИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ**

А.В. Ульрих^{1,2}

Научный руководитель: старший научный сотрудник, д.б.н. Т.Г. Разина

¹Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 3, 634028

²Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: galiulina_1992@mail.ru

**SORBUS AUCUPARIA L. EXTRACT FOR COMPLEX THERAPY OF EXPERIMENTAL
TUMORS**

A.V. Ulrich^{1,2}

Scientific Supervisor: Senior Researcher, Sc.D. T.G. Razina

¹Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg,

Russia, Tomsk, Lenina st., 3 Av., 634028

²National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina st., 36, 634050

E-mail: galiulina_1992@mail.ru

Abstract. *In experiment on mice with lung Lewis carcinoma, the ability of extract Sorbus aucuparia to inhibit tumor growth and increase cytostatic antitumor activity was shown.*

В настоящее время особый интерес у исследователей вызывает использование в комплексной терапии злокачественных новообразований средств растительного происхождения, поливалентность действия которых определяется наличием в их составе различных биологически активных веществ (БАВ), в частности фенольных соединений. Антоцианы и фенолоксилоты, составляющие основу полифенольного комплекса целого ряда ягод, фруктов, обладают антиоксидантным, иммуностропным, противовоспалительным, капилляроукрепляющим действием. Наряду с этим они способны влиять на опухолевый рост целого ряда клеточных линий [1]. Учитывая вышесказанное, представляется перспективным изучить влияние экстракта рябины обыкновенной на развитие карциномы легких Льюис (3LL) у мышей и эффективность лечения циклофосфаном.

Эксперимент выполнен на 60 половозрелых мышах-самках линии C57BL/6 массой 20-21 г, полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, г. Томск. Карциному лёгких Льюис (3LL) перевивали внутримышечно по 5-6 млн опухолевых клеток в 0,1 мл физиологического раствора в мышцу левой задней лапы животного-реципиента. В качестве объекта исследования использован жидкий спиртовой экстракт плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia L.*) (ЭРО), обогащенный антоцианами (M_{co} в 1 мл = 0,14167 г). По данным химического анализа, проведенного на кафедре фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ г. Томска, основными действующими веществами экстракта являются фенолоксилоты и антоцианы. Количественное

определение данных групп БАВ в исследуемом экстракте проводили методом прямой спектрофотометрии [2,3]. Содержание суммы фенолоксилов, в пересчете на хлорогеновую кислоту, в ЭРО составляет $2,97 \pm 0,15\%$, а суммы антоцианов, в пересчете на цианид-3-о-глюкозид $-1,09 \pm 0,05\%$.

Для проведения цитостатической терапии использовали циклофосфан (ЦФ), выпускаемый промышленностью (ОАО «Биохимик», г. Саранск), который вводили животным однократно внутрибрюшинно на 12 сут после перевивки опухоли в дозе 125 мг/кг. Лечение ЭРО начинали с 6 сут после перевивки опухоли и продолжали в течение 12 сут. Экстракт вводили внутривенно в дозах 1 и 5 мл/кг. Контрольные мыши получали эквивалентные количества растворителя в дни введения препаратов. В конце экспериментов мышей умерщвляли, соблюдая «Правила работы с лабораторными животными». Определяли массу первичной опухоли, массу легких с метастазами, подсчитывали количество и площадь метастазов, вычисляли процент торможения роста опухоли (ТРО), частоту метастазирования (ЧМ, %), индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %) [4]. На 3 сут после введения ЦФ определяли показатели периферической крови мышей с помощью гематологического анализатора «Muchic 18vet» (Cormay, Франция). Результаты обрабатывали с применением непараметрических критериев Вилкоксона-Манна-Уитни и точного метода Фишера.

Обнаружено, что после однократного внутрибрюшинного введения мышам ЦФ в дозе 125 мг/кг масса 3LL уменьшилась в 1,6 раза, количество метастазов снизилось в 3,3 раза ($P < 0,01$), многократно меньше оказалась площадь метастатического поражения легких ($P < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями; ИИМ составил 72%. При добавлении в схему химиотерапии ЭРО прослеживалась тенденция к уменьшению массы опухоли по сравнению с таковой у животных, получавших только ЦФ. В то же время, совместное использование ЦФ с ЭРО привело к достоверному повышению противометастатического действия цитостатика. Так, количество метастазов и их площадь у мышей, получавших совместно с ЦФ экстракт в дозах 1 и 5 мл/кг, оказались многократно меньше (в 10,7 и 16,8 раза и 34,8 и 11,6 раза соответственно, $P < 0,01$), ЧМ составила 20 и 38% против 90% у животных, леченных только ЦФ; ИИМ оказался наивысшим при использовании обеих доз ЭРО, достигая 99%. При изолированном назначении мышам ЭРО в дозах 1 и 5 мл/кг отмечено достоверное торможение роста первичной опухоли (12 и 20%). Кроме того, у мышей, получавших экстракт в дозе 1 мл/кг количество метастазов в легких и их площадь оказались в 1,8 и 3,4 ($P < 0,01$) раза меньше, чем у животных контрольной группы; ИИМ составил 44% (табл.1).

При изучении периферической крови животных на 3 сут после однократного введения циклофосфана в дозе 125 мг/кг отмечено его токсическое действие на клетки белой крови: общее количество лейкоцитов достоверно уменьшилось в 3,8 раза (с $11,41 \pm 0,89$ до $3,01 \pm 0,69$ г/л) относительно контрольного уровня за счет снижения числа нейтрофильных гранулоцитов (с $1,99 \pm 0,23$ до $0,43 \pm 0,10$ г/л), лимфоцитов (с $8,69 \pm 0,73$ до $2,44 \pm 0,56$ г/л) и моноцитов (с $0,75 \pm 0,04$ до $0,15 \pm 0,05$ г/л). У животных, получавших совместно с ЦФ ЭРО, показатели белой крови достоверно не различались с таковыми у мышей группы монокимиотерапии. Следует отметить, что у мышей, которым вводили изолированно ЭРО в дозе 5 мл/кг, количество моноцитов оказалось выше этого значения у мышей контрольной группы ($0,75 \pm 0,04$ г/л против $1,30 \pm 0,15$ г/л ($P < 0,01$)).

Таблица 1

Влияние жидкого экстракта рябины обыкновенной на развитие 3LL и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии C57BL/6

| Группа наблюдения, доза мл/кг (количество животных) | Масса опухоли (X±m), г | ТРО, % | ЧМ, % | Количество метастазов (X±m) | Площадь метастазов (X±m), мм ² | ИИМ, % |
|---|------------------------|--------|-----------------|-----------------------------|---|--------|
| 1. Контроль (9) | 6,20±0,22 | - | 100 | 20,89±2,47 | 29,14±6,13 | - |
| 2. ЦФ, 125 (10) | 3,91±0,40 1-2P<0,01 | 37 | 90 | 6,40±2,31 1-2P<0,01 | 1,39±0,80 1-2P<0,01 | 72 |
| 3. ЭРО,1 (10) | 5,46±0,24 1-3P<0,05 | 12 | 100 | 11,70±1,22 1-3P<0,01 | 8,69±1,08 1-3P<0,01 | 44 |
| 4. ЦФ + ЭРО,1 (10) | 3,42±0,46 | 45 | 20 2-4P<0,01 | 0,60±0,43 2-4P<0,01 | 0,04±0,03 2-4P<0,01 | 99 |
| 5. ЭРО,5 (10) | 4,95±0,20 1-5P<0,01 | 20 | 100 | 18,10±3,95 | 24,85±11,62 | 13 |
| 6. ЦФ + ЭРО,5 (8) | 3,25±0,40 | 48 | 38 2-6P<0,01 | 0,38±0,18 2-6P<0,01 | 0,12±0,01 2-6P<0,01 | 99 |

Примечание: в таблице перед уровнем значимости P указаны номера сравниваемых групп

Таким образом, в эксперименте выявлено торможение роста первичной опухоли 3LL, уменьшение количества и площади метастазов в легочной ткани животных под влиянием жидкого экстракта плодов рябины обыкновенной. Обнаружено стимулирующее влияние экстракта плодов рябины обыкновенной в дозе 5 мг/кг на моноциты периферической крови у животных с карциномой легких Льюис. Показано повышение противометастатического действия циклофосфана при его совместном использовании с экстрактом плодов рябины обыкновенной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гольдина, И.А. Полифенольные соединения черники: особенности биологической активности и терапевтических свойств / И.А. Гольдина, И.В. Сафронова, К.В. Гайдуль // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 10. – С. 221–228.
2. Коломиец, Н. Э. Стандартизация листьев крапивы двудомной / Н.Э. Коломиец, Г.И. Калинкина, Н.Н. Сапронова // Фармация. – 2011. – № 6. – С. 22–24.
3. Андреева, В.Ю. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной / В.Ю. Андреева [и др.] // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 19–21.
4. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / З.П. Софьина [и др.] – М.: «Медицина», 1980. – 296 с.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕРИЛИЗАЦИИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АТМОСФЕРНОЙ
ПЛАЗМОЙ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН ИЗ ПЭТФ**

¹Е.О. Филиппова, ²Н.С. Каланда, ¹А.Н. Алейник

Научный руководитель – профессор, д.ф-м.н. В.Ф. Пичугин

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

²Сибирский государственный медицинский университет,

Россия, г. Томск, Московский тракт, 2, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

**LOW TEMPERATURE ATMOSPHERIC PLASMA STERILIZATION OF PET TRACK
MEMBRANES STUDY**

¹E.O. Filippova, ²N.S. Calanda, ¹A.N. Aleinik

Scientific Supervisor: Prof., Dr. V.F. Pichugin

¹Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

²Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moscowski Trakt, 2, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

***Abstract.** The research work illustrated the results of track membrane sterilization by low-temperature atmospheric plasma. The results showed the sterilization effect of plasma processing the samples at 30 and 60 seconds.*

Трековые мембраны (ТМ) из полиэтилентерефталата (ПЭТФ) благодаря пористой структуре и биологической совместимости обладают хорошим потенциалом для применения в офтальмологии при лечении эпителиально-эндотелиальной дистрофии роговицы глаза [1]. Перед хирургической операцией имплантаты обязательно подвергаются процедуре стерилизации, наиболее приемлемыми способами в отечественной практике здравоохранения являются паровой метод и метод воздействия ионизирующим облучением. В результате воздействия высокой температуры и давления (паровой метод) или высокоэнергетического облучения (метод воздействия ионизирующим облучением) возможно изменение физико-механических и химических свойств полимерных имплантатов, что может сказаться на их функциональности, токсичности и безопасности. В последнее время все больше уделяется внимание разработке новых методов щадящей стерилизации [3, 4], в частности – антимикробному эффекту низкотемпературной плазмы, что было продемонстрировано в экспериментальной работе [2] по изучению взаимодействия неравновесной плазмы с микроорганизмами. Однако, исследования допустимости метода стерилизации низкотемпературной атмосферной плазмой полимерных материалов, в частности - трековых мембран из ПЭТФ, еще не проводились, что и определило цель настоящей работы.

Цель исследования – изучить возможность стерилизации трековых мембран из ПЭТФ низкотемпературной атмосферной плазмой.

Трековые мембраны из ПЭТФ были получены путем облучения полимерной пленки пучком ионов $^{40}\text{Ar}^{+8}$ с максимальной энергией 41 МэВ. Щелочное травление осуществлялось в водном растворе NaOH с 1.5 N концентрацией при температуре $77\pm 5^\circ\text{C}$, в результате чего были получены мембраны с диаметром пор 0,55 мкм плотностью $5\cdot 10^6$ пор/см².

Испытания по стерилизации проводили в соответствии МУ 287-113, ГОСТ ИСО 11737-2-2011, ГОСТ ИСО 11737-1-2012, ГОСТ Р ИСО 14937-2012, ГОСТ Р ИСО 14630-2011 [6 - 11]. В качестве стерилизующего агента использовалась экспериментальная установка атмосферной низкотемпературной плазмы (Томский политехнический университет) со следующими характеристиками. Барьерный разряд осуществлялся с помощью специально разработанного источника холодной плазмы. Напряжение было равно 25 кВ, частота - 5 кГц. Плотность мощности составляла величину 2 Вт/см². Температура поверхности не превышала 40°C. Испытание проводили в асептических условиях (в ламинарной установке «ESCO» АС-2 – 4Е1).

На каждый образец воздействовали плазмой по 30 и 60 секунд, после чего определяли стерильность мембран, используя метод прямого посева (погружения) ТМ целиком в питательные среды (тиогликолевую среду и бульон Сабура) [6], которые заранее были приготовлены в соответствии с инструкцией изготовителя и разлиты по 100 мл в стерильные флаконы [8]. После погружения мембран среду слегка перемешивали, посева инкубировали в течение 14 дней при температуре (30 – 35)°C на тиогликолевой среде и при температуре (20 – 25)°C на бульоне Сабура. Оценку результатов производили визуальным просмотром ежедневно: помутнение среды являлось признаком наличия роста микроорганизмов. Контрольные образцы воздействию низкотемпературной атмосферной плазмой не подвергались.

В результате наблюдения было выявлено помутнение сред контрольной группы образцов на первые сутки инкубации. Среды образцов основной группы оставались интактными на протяжении всего времени инкубации, оставаясь тем самым прозрачными (рис. 1).

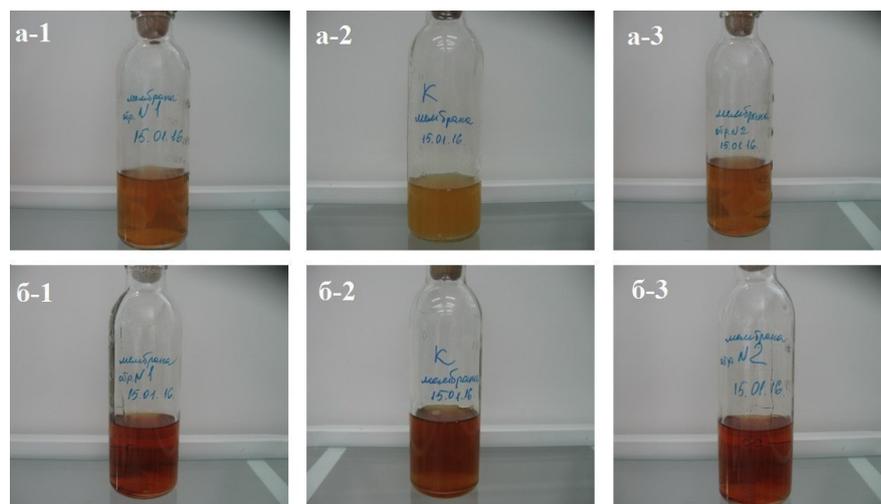


Рис.1. Посев на питательных средах при испытании трековых мембран на стерильность методом прямого посева: № 1 – время плазменного воздействия 30 секунд, № 2 – контроль, № 3 – время плазменного воздействия 60 секунд; а) для выявления аэробных и анаэробных бактерий, тиогликолевая среда; б) для выявления грибов, бульон Сабура

Стерилизующий эффект плазмы, как показано в [5], достигается путем воздействия образующихся в ходе химических реакций заряженных и активных частиц плазмы на внешнюю оболочку микроорганизмов. В результате плазмохимических реакций, образованные активные частицы, такие как озон O_3 ; атомарный и синглетный кислород O ; гидроксильные радикалы OH ; окислы азота NO , NO_2 и в ряде случаев отрицательный ион кислорода O_2^- [3], воздействуют на клеточную стенку микроорганизмов, индуцируя в ней необратимые изменения и вызывая тем самым гибель клеток. Механизм взаимодействия частиц плазмы с бактериальными клетками подробно рассматривался в экспериментальных работах [2, 4, 5].

Результаты проведенного эксперимента показали, что низкотемпературная атмосферная плазма обладает стерилизующей способностью в режимах обработки образцов по 30 и 60 секунд и может применяться для стерилизации трековых мембран из полиэтилентерефталата, которые требуют щадящего стерилизационного режима.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Filippova E. O. , Sokhoreva V. V. , Pichugin V. F. Potential use of nuclear track membranes in ophthalmology // Petroleum Chemistry. – 2014 – Vol. 54 – №. 8. – p. 669–672.
2. Алейник А.Н., Байков А.Н., Дамбаев Г.Ц. и др. Особенности взаимодействия неравновесной плазмы с живыми тканями // Вестник науки Сибири. – 2012. – № 3. – С. 44 – 48 .
3. Елистратов А.А. Генерация импульсных объемных разрядов в воздушной среде атмосферного давления для целей стерилизации и обеззараживания: Автореф. дис. канд. тех. наук. – Москва – 2012., с.
4. Остроухова А.А. Обоснование и оценка эффективности применения плазменной стерилизации в стоматологической клинике: Автореф. дис. канд. мед. наук. А.Н., Москва – 2005., с. 7.
5. Aleinik A.N., Baykov A.N. Application of Cold Atmospheric Pressure Plasmas for Biological Tissue Treatment // Advanced materials research. – vol. 1084. – 2015. – pp 602–605.
6. МУ 287–113 «По дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».
7. ГОСТ ИСО 11737–2–2011. Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Ч.2. Испытания на стерильность, проводимые при валидации процессов стерилизации.
8. Государственная фармакопея Российской Федерации, XII выпуск, часть 1, Москва. – 2007.
9. ГОСТ ИСО 11737–1–2012. Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Ч.1. Оценка популяции микроорганизмов на продукции.
10. ГОСТ Р ИСО 14937–2012. Стерилизация медицинской продукции. Общие требования к определению характеристик стерилизующего агента и к разработке, валидации и текущему контролю процесса стерилизации медицинских изделий.
11. ГОСТ Р ИСО 14630–2011. Национальный Государственный Стандарт. Имплантаты хирургические неактивные. Общие требования.

**PECULARITIES OF BIOMEDICAL TI-NB ALLOYS, PREPARED BY ELECTRON ARC
MELTING AND SELECTIVE LASER MELTING**

M.A. Khimich^{1,3}, I.A. Glukhov¹, E.A. Parilov²

Scientific Supervisors: Prof., Dr. Yu.P. Sharkeev, Dr.-Ing. Zh.G. Kovalevskaya

¹Institute of Strength Physics and Materials Science, Russia, Tomsk, Akademichesky avenue 2/4, 634055

²National Research Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin avenue 30, 634050

³National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin avenue 36, 634050

E-mail: khimich@ispms.tsc.ru

**ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ БИМЕДИЦИНСКИХ СПЛАВОВ Ti-Nb, ПОЛУЧЕННЫХ
ЭЛЕКТРОДУГОВОЙ ПЛАВКОЙ И СЕЛЕКТИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ СПЛАВЛЕНИЕМ**

М.А. Химич^{1,3}, И.А. Глухов¹, Е.А. Парилов²

Научные руководители: профессор, д.ф.-м.н. Ю.П. Шаркеев, к.т.н. Ж.Г. Ковалевская

¹Институт физики прочности и материаловедения СО РАН,

Россия, г. Томск, пр. Академический 2/4, 634055

²Томский политехнический университет, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

³Томский государственный университет, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: khimich@ispms.tsc.ru

***Аннотация.** Выявлено, что при электродуговой плавке и селективном лазерном сплавлении в сплаве Ti-Nb имеет место ликвация компонентов. На участках, обогащенных Nb образуется β -фаза, на участках, обедненных Nb – α' -фаза. Для устранения неоднородности фазового и элементного состава рекомендуется повысить содержание Nb в сплаве до 45 мас. %.*

The Ti-Nb alloys are used for the production of bioimplants due to their good mechanical properties and biocompatibility [1]. It was founded that alloys containing 40-45 mas % Nb have the lowest Young's modulus which is important for compatibility of implant and bone [2]. One of the modern methods of implants production is the method of selective laser melting (SLM). It is possible to obtain products with prescribed porosity by SLM method [2]. But high cooling rates during this process cause structural heterogeneity of obtained alloys. This heterogeneity may subsequently cause the rejection of the implant.

The aim of this investigation was to study conditions of the formation of the Ti-Nb alloy in different crystallization conditions.

Ingots produced by electron arc melting were investigated in this paper [3]. The mass of each ingot was 300 g. The structure of the ingot after melting was investigated.

SLM was carried out on "VARISKAF 100MV" installation. The composite powder material of Ti and Nb was applied on VT1-0 substrate. SLM conditions were as follows. Power of laser beam was 105 W, scanning speed of laser beam was 2000 mm/min, the spot diameter was 0.7 mm, scanning step was 0.05 mm and the substrate temperature at the beginning of melting was 200°C. Laser beam scan direction was changed by 90° for each subsequent layer. The specimens consisting of seven layers were investigated.

The investigations were carried out in shared use centers “NANOTECH”, ISPMS SB RAS Tomsk, “MIMAM”, NSTU, Novosibirsk and NR TPU, Tomsk on diffractometer DRON-7 (Burevestnik, Russia), SEM with energy dispersive microanalysis (EDMA) LEO EVO 50 (Zeiss, Germany) and metallographic microscope Carl Zeiss Axio Observer (Zeiss, Germany).

Primary dendritic-cell structure with secondary grain structure is observed on metallographic images of cast alloy (fig. 1a). The size of secondary grains is varied between 80 and 1000 μm [3]. Sizes of structural elements indicate that cooling rate of the alloy during ingot crystallization is about 100 deg/s.

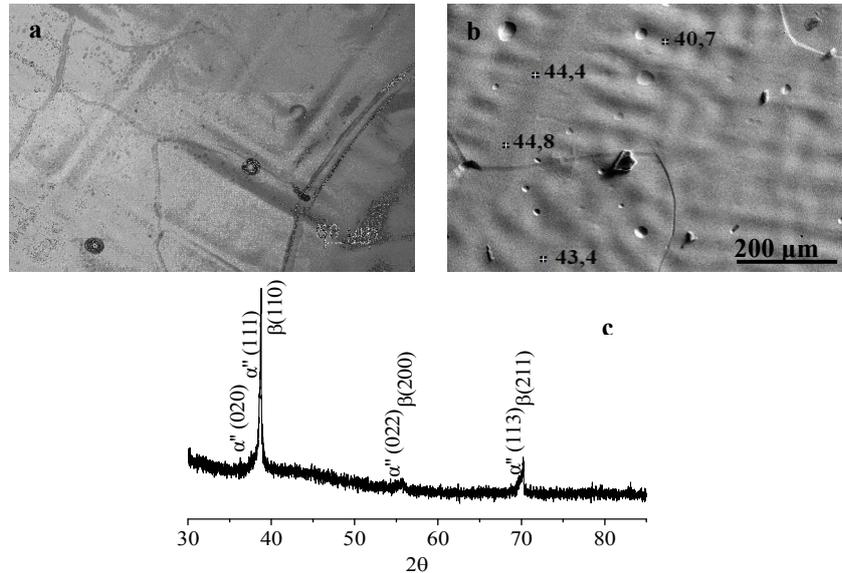


Fig. 1. The image of microstructure (a), concentration of Nb (mas %) in the elements of structure (b) and fragment of X-ray diffraction pattern (c) of the cast specimen

The dendritic structure in the ingot indicates presence of dendritic segregation in the alloy. Concentration of Nb in dendrites is greater than in interdendritic space (fig. 1b).

The main phase in the alloy is β -phase (fig. 1c). Furthermore, the α' -phase peaks can be identified on diffraction patterns. This phase is nonequilibrium and it forms in conditions of quenching from liquid state. Consequently, the process of the ingot formation occurs in nonequilibrium conditions. Only β -phase grains are observed on metallographic image of the ingot (fig. 1a).

The structure of the alloy during SLM is formed in completely different temperature and rate conditions. The high cooling rates about 105 deg/s could ensure the formation of fine grain structure and nonequilibrium phases.

The process of layers stacking of SLM-specimens is accompanied by the formation of macrodefects such as interlayer boundaries, large drawholes, etc. Each layer has nondendritic grain structure with average grain size about 8 μm (fig. 2a).

Nondendritic grain grows in the alloy during the process of crystallization. High cooling rates facilitate this process. It can be concluded that cooling rate of the alloy during SLM is 104 deg/s. The quantitative ratio of min components of the alloy ranges from 36 to 38 mas % Nb (fig. 2b). The Nb concentration is varied between 15 and 42 mas %. Consequently, heterogeneity of components distribution is retained in Ti-Nb alloy.

The reflections from the β - and α' -phase planes are identified on diffraction patterns of investigated specimens (fig. 2c). Exclusion of presence of nonequilibrium α' -phase is possible by long annealing but it may lead to the growth of grain.

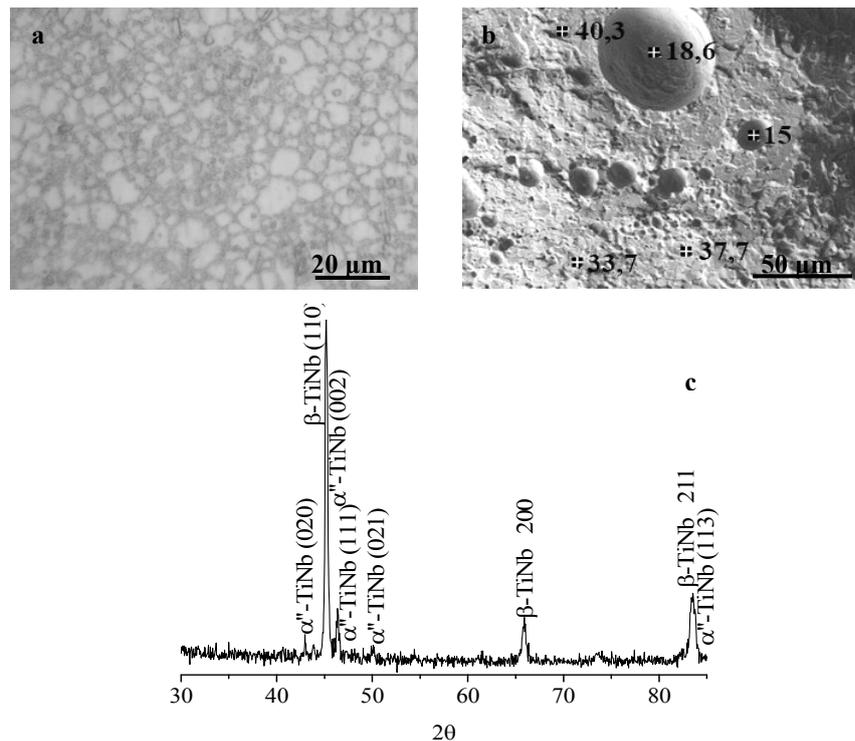


Fig. 2. The image of microstructure (a), concentration of Nb (mas %) in the elements of structure (b) and fragment of X-ray diffraction pattern (c) of the specimen obtained by SLM

Conclusion

1. During crystallization in Ti-Nb alloy with 40 mas % of Nb primary dendritic structure is formed throughout the whole bulk of the ingot. There is dendritic segregation in the alloy. The secondary structure is large polyhedral β -phase grains.
2. The structure consisting of fine grains is formed after SLM. The two-phase composition indicates that the alloy heterogeneity retains at high cooling rates.
3. It is recommended to increase Nb concentration in the alloy up to 45 mas %.

This investigation is performed under financial support of Russian Scientific Foundation, project #15-19-00191

REFERENCES

1. Collings E.W. The Physical Metallurgy of Titanium alloys. Ohio, American Society for Metals, 1984.
2. K. Zhuravleva, M. Bönisch, K.G. Prashanth, U. Hempel, A. Helth, T. Gemming, M. Calin, S. Scudino, L. Schultz, J. Eckert, A. Gebert, Production of porous β -type Ti-40Nb alloy for biomedical applications: comparison of selective laser melting and hot pressing, Mater. (2013) Vol. 6 pp. 5700–5712.
3. Yu.P. Sharkeev, Zh.G. Kovalevskaya, Q. Zhu, M.A. Khimich, E.A. Parilov Investigation of the Influence of Ti-Nb Alloy Composition on the Structure of the Ingots Produced by Arc Melting. Adv. Mater. Research, (2015) Vol. 1085 pp. 307–311.

КРАТКИЙ АНАЛИЗ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПИОЦИАНИНА

К.А. Худеева, Е.К. Прохорец

Научный руководитель: доцент, к.п.н., Е.К. Прохорец

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: hudeeva@mail.ru

A BRIEF ANALYSIS OF THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF PYOCYANIN

K.A. Hudeeva, E. Prokhorets

Scientific Supervisor: Fr. Dr. E. Prokhorets

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: hudeeva@mail.ru

Abstract. *The aim of this work is to study the properties of the pigment Pyocyanin, one of the metabolites of Pseudomonas aeruginosa. An important phase of the study is the producer. In addition, a mechanism for Williamson ether synthesis is explored.*

Исследование относится к области биотехнологии. Целью данной работы является изучение свойств пигмента пиоцианина, одного из метаболитов бактерии *Pseudomonas aeruginosa*. В начале исследования, мы исследовали *Pseudomonas aeruginosa* как продуцента пиоцианина. Эти грамотрицательные бактерии растут на питательных средах простого состава. Важным аспектом при получении конечного продукта является изучение условий культивирования продуцента.

Pseudomonas aeruginosa (далее *P. aeruginosa*) представляет собой грамотрицательные, палочковидные, оксидазопозитивные бактерии рода *Pseudomonas*. *P. aeruginosa* приближенно имеют размеры 0,5 - 0,8 мкм x 1,5 - 3,0 мкм, бактерия имеет 1 полярный жгутик., впервые была описана в 1882 году Гессардом [1].

P. aeruginosa распространена в почве, воде, растениях и животных. *P. aeruginosa* является оппортунистическим патогеном и вызывает различные острые и хронические (внутрибольничные) инфекции или интубации механически вентилируемых пациентов. Спектр заболевания колеблется от раневой инфекции, сепсиса (например, после обширных ожогов), инфекции мочевыводящих путей и инфекций дыхательных путей вплоть до гнойного кератита глаза.

Название было получено от сине-зеленого цвета гноя при гнойных инфекциях. Пигменты *P. aeruginosa* обладают сильным антибиотическим действием. Питательные среды при культивировании окрашиваются. Это, как правило, блестящие, металлически-зеленые колонии. Характерным является запах, похожий на запах цветущей липы или жасмина.

Многие антибиотики сегодня теряют свой терапевтический эффект, таким образом, поиск новых веществ, таких как пиоцианин (рис. 1), очень важен. Причина данного явления кроется в бесконтрольном использовании антибиотиков.

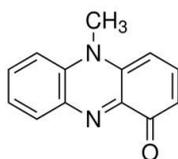


Рис. 1. Структурная формула пиоцианина

Темно-синие кристаллы в виде игл. Свободно растворяется в хлороформе, а также в нитробензоле, хлористом метиле, пиридине, феноле, уксусной кислоте, горячей воде, горячем спирте; слабо - в холодной воде и бензоле. При действии кислот раствор его краснеет и дает новое кристаллическое соединение. Не ядовит. На воздухе, под влиянием кислорода, равно как и при действии других окислителей, пиоцианин переходит в желтую, также кристаллизующуюся пиоксантозу (pyoxanthose) [2].

На основе данных веб-сайта Sigma-Aldrich [3], мы определили основные химические параметры пиоцианина. Эти данные приведены в таблице 1.

Таблица 1

Свойства пиоцианина

| | |
|-----------------------|--|
| Название | Pyocyanin |
| Синонимы | 5-Methyl-1 (5H) -phenazinone, Sanasin |
| Регистрационный номер | 85-66-5 |
| Молекулярная формула | C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O |
| Молекулярная масса | 210,23 |
| Температура плавления | 133 °C |

Пиоцианин является антибактериальным красителем. Благодаря своим редуцирующим свойствам пиоцианин генерирует оксидативный стресс у бактерий и клеток млекопитающих [4].

Экстракция является важным этапом при получении кристаллического пиоцианина. Типичная методика экстракции представлена Rabaey и его исследовательской группой [5]. Ученые используют хлороформ в качестве растворителя. Мы обнаружили, что метилхлорид так же подходит для экстракции, потому что его технологические параметры имеют наилучшие характеристики для этого.

Важным шагом в исследовании является изучение бактериальных метаболитов продуцента. Кроме того, важно поддерживать антибиотические свойства и агрегатное состояние для изучения химической модификации пиоцианина. Для химической модификации, мы предлагаем использовать синтез Вильямсона. Информация об этой реакции можно почерпнуть из учебника Лауэ [6].

Синтез Вильямсона (смотри также синтез простых эфиров) используется для производства симметричных и асимметричных эфиров. Реакция была разработана в 19-м веке Александром У. Вильямсоном и названа в его честь. Синтез Вильямсона представляет собой частный случай нуклеофильного замещения (S_N), в котором алколюлят (Alkyl-O⁻, Aryl-O⁻) используется в качестве нуклеофильного агента. Механизм реакции может проходить как реакция S_N1, так и реакция S_N2.

Синтез Вильямсона представляет собой двухступенчатый процесс в его технической реализации. Во-первых, из спиртового компонента реакции должен быть получен алкоколят, как правило, путем реакции спирта с металлическим натрием или калием. В качестве альтернативы можно также работать с соответствующими гидридами, гидридом натрия или гидридом калия. Последний вариант имеет то преимущество, что гидриды могут храниться на воздухе, и более стабильны, чем порошковые материалы. На втором этапе, алкоколят подвергают взаимодействию с электрофильным агентом. В качестве электрофильных агентов используют алкилхлориды, алкилбромиды или алкилиодиды, а также сложные эфиры сульфокислоты, *p*-толуолсульфоновой кислоты или метансульфоновой кислоты [7].

Также важным является следующий аспект. Пиоцианин является цвиттер-ионом. Цвиттер-ион является молекулой, имеющей две или более функциональные группы, одна из которых несет положительный заряд, а другая - отрицательный. Если, например, у цвиттер-иона две функциональные группы с противоположными зарядами, так что молекула является электрически нейтральной в целом. В какой-то степени, термин "внутренняя соль" используется для цвиттер-иона. Это наше преимущество, потому что мы предполагаем опустить первую стадию синтеза Вильямсона.

В заключении хотелось бы сделать следующие выводы. В работе были проанализированы структура и свойства пиоцианина. Было обнаружено, что пиоцианин обладает высокой антибиотической активностью, а так же является цвиттер-ионом, что имеет важное значение для его дальнейшей химической модификации. Кроме того, было обнаружено, что хлористый метилен подходит для лучшей экстракции конечного продукта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Steinmetz, I. (2009). Nichtfermentierende Bakterien (Nonfermenter): Pseudomonas, Burkholderia, Stenotrophomonas, Acinetobacter. Springer-Lehrbuch, no. 5, pp 275-285.
2. Leitermann F., Biotechnologische Herstellung mikrobieller Rhamnolipide. – Karlsruhe: Universitätsverlag Karlsruhe, 2008 - 156 p.
3. Сайт Sigma-Aldrich [электронный ресурс] // Copyright © 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. All Rights Reserved. URL: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p0046?lang=de®ion=DE> (Дата обращения: 16.02.2016).
4. Ehrismann O. (1934). Pyocyanin und Bakterienatmung. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, no. 116, pp 209-224.
5. Rabaey K. Boon N. Hofte M. Yverstraete W. (2005). Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. Environ. Sci. Technol, no. 39 (9), pp 3401–3408.
6. Laue T., Namen- und Schlagwort-Reaktionen der Organischen Chemie. – Stuttgart-Leipzig-Wiesbaden: Teubner, 1998. – 365 p.
7. Blumenthal G., Chemie. Grundwissen für Ingenieure. - Stuttgart-Leipzig-Wiesbaden: Teubner, 2006. – 584 p.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АВС-ТРАНСПОРТЕРОВ В ОПУХОЛИ ЛЕГКОГО
ПРИ ПРОВЕДЕНИИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИТЕРАПИИ**

М.М. Цыганов^{1,2}, И.В. Дерюшева¹, Е.О. Родионов¹

Научный руководитель: д.б.н. Н.В.Литвяков

¹Томский НИИ онкологии,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: TsyganovMM@yandex.ru

**RESEARCH EXPRESSION OF ABC-TRANSPORTERS GENES IN LUNG TUMORS DURING THE
COURSE OF NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY**

M.M. Tsyganov^{1,2}, I.V. Deryusheva¹, E.O. Rodionov¹

Scientific Supervisor: Doctor of Sc., N.V. Litviakov

¹Tomsk Cancer Research Institute, Russia, Tomsk, Kooperativny Street, 5, 634050

²Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina av., 36, 634050

E-mail: TsyganovMM@yandex.ru

Abstract. *The use of neoadjuvant chemotherapy in the treatment of patients with non-small cell lung cancer can reduce the tumor size, increase ablative operations, as well as to plan carrying out post-operative chemotherapy. But one of the important reasons for the ineffectiveness of chemotherapy is chemoresistance due to the expression of ABC-transporter genes (ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2 and gene metabolism GSTP1). Thus, the aim was to study the expression of ABC genes during chemotherapy. As a result, it was found that the expression of genes correlated with chemoresistance weakly basic clinical and morphological parameters. But it was found that the direction of change in gene expression ABCB1, increase or decrease, associated with survival rates.*

Актуальность. По данным ряда авторов использование химиотерапии в неoadьювантном режиме при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) представляется перспективным. Одним из важных препятствий конвенциональной химиотерапия рака легкого является химиорезистентность (феномен множественной лекарственной устойчивости (МЛУ)), которая может быть как предсуществующей, так и формироваться в процессе лечения. Данный феномен обусловлен повышением экспрессии энергозависимых АВС-транспортеров (*ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2, GSTP1*). Продукты данных генов осуществляют выброс цитостатических препаратов из опухолевых клеток против градиента концентрации (собственно множественная лекарственная устойчивость). Они определяют 75-85% случаев низкой эффективности химиотерапии [1, 2]. Стоит отметить, что на других локализациях, в частности раке молочной железы, было показано, что эффективность НХТ, а также прогноз заболевания, определяется направлением изменения экспрессии данных генов в процессе лечения [3, 4].

Цель работы: изучение экспрессии генов ABC-транспортёров в опухоли легкого в процессе неоадьювантной химиотерапии.

Материалы и методы. В исследование было включено 22 больных НМРЛ II и III стадии, центральной или периферической локализации с морфологически верифицированным диагнозом. Больные находились на лечении в клинике Томского НИИ онкологии, которые в неоадьювантном режиме получали 2 курса химиотерапии по схеме винорельбин-карбоплатин. После НХТ пациентам проводилась операция в объеме пневмонэктомии или лобэктомии. Далее адьювантная химиотерапия (АХТ). В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы нормальной и опухолевой ткани легкого до лечения и после НХТ. РНК выделяли из 22 парных образцов с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany). Уровень экспрессии генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*, *GSTP1* оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени относительно нормальной ткани легких [3]. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 8.0». Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. Сравнение частот по качественным данным анализировали при помощи двухстороннего критерия Фишера. Для анализа безметастатической и общей выживаемости использовались кривые выживаемости, построенные по методу Каплана-Майера [5].

Результаты. В результате исследования было установлено, что экспрессия генов ABC слабо коррелирует с клинико-морфологическими параметрами заболевания. С эффектом НХТ на уровне выраженной тенденции ассоциирован начальный уровень экспрессии гена *ABCC1*. У пациентов с частичной регрессией уровень экспрессии выше, чем при эффекте стабилизации. Статистически значимых различий не установлено, что связано с небольшой частотой больных с частичной регрессией (n=3). Интересным представляется изучение изменения экспрессии генов ABC-транспортёров в процессе лечения и связь с эффектом НХТ у больных немелкоклеточным раком легкого. Как оказалось, в связи с небольшой выборкой больных с частичной регрессией, направление изменения экспрессии не сопряжено с эффектом проводимого лечения. Но при этом оценка прогностической значимости изменения экспрессии ABC-транспортёров показала статистически значимые результаты. Так изменение экспрессии гена *ABCB1* сопряжено с безметастатической (Рисунок 1-А) и общей выживаемостью (Рисунок 1-Б) больных НМРЛ. Снижение экспрессии ассоциировано с более высокими показателями выживаемости по сравнению с группой пациентов с повышением экспрессии.

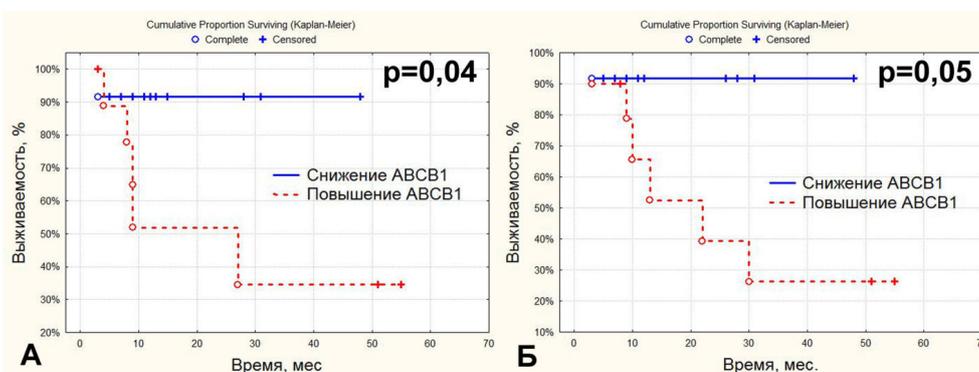


Рис. 1. Безметастатическая (А) и общая (Б) выживаемость больных НМРЛ в зависимости изменения экспрессии гена *ABCB1*

Снижение еще одного гена *ABCG1* на уровне выраженной тенденции ($0,05 < p < 0,1$) также было связано с хорошим прогнозом. Показатели общей выживаемости были заметно лучше в группе пациентов, у которых наблюдалось снижение экспрессии данного гена в процессе проводимого лечения. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы. Некоторыми авторами был представлен вклад генов *ABCB1* и *ABCC1* в показатели выживаемости больных раком легкого [6, 7]. Было также показано, что с неблагоприятным прогнозом была ассоциирована высокая экспрессия генов *ABCB1*, *ABCC2* и *ABCG2* [8]. Хотя более поздние исследования показали, что экспрессия генов *ABCB1* и *ABCC3* слабо коррелирует с общей выживаемостью пациентов с НМРЛ [9].

Выводы. В результате исследования была изучена экспрессия генов ABC-транспортёров в процессе НХТ у больных немелкоклеточным раком легкого. Было установлено, что экспрессия данных генов слабо коррелирует с клинико-морфологическими параметрами, а также эффектом химиотерапии. Оценка прогностической значимости изменения экспрессии генов химиорезистентности показала, что с более высокими показателями безметастатической и общей выживаемости коррелирует снижение экспрессии гена *ABCB1* в процессе лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. O'Driscoll, L. and Clynes, M. (2006). Biomarkers and multiple drug resistance in breast cancer. *Current Cancer Drug Targets*, no. 5, pp. 365-384.
2. Wind, N. and Holen, I. (2011). Multidrug resistance in breast cancer: from in vitro models to clinical studies. *International journal of breast cancer*, no. 1, pp. 1-12.
3. Litviakov, N.V., Cherdyntseva, N.V., Tsyganov, M.M., Denisov, E. V., Garbukov, E.Y., Merzliakova, M.K., Slonimskaya, E.M. (2013). Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, no. 1, pp. 153-163.
4. Litviakov, N.V. (2013) Gradient phenomenon of multidrug resistance gene expression in breast cancer during neoadjuvant chemotherapy is related to disease progression. *Siberian journal of oncology*, no. 58, pp. 5-11.
5. Kaplan, E.L. and Meier, P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American statistical association*, no. 282, pp. 457-481.
6. Hsia, T.-C., Lin, C.-C., Wang, J.-J., Ho, S.-T., & Kao, A. (2002). Relationship between chemotherapy response of small cell lung cancer and P-glycoprotein or multidrug resistance-related protein expression. *Lung*, no. 3, pp. 173-179.
7. Triller, N., Korošec, P., Kern, I., Košnik, M., & Debeljak, A. (2006). Multidrug resistance in small cell lung cancer: expression of P-glycoprotein, multidrug resistance protein 1 and lung resistance protein in chemo-naive patients and in relapsed disease. *Lung Cancer*, no. 2, pp. 235-240.
8. Campa, D., Müller, P., Edler, L., Knoefel, L., Barale, R., Heussel, C. P., Risch, A. (2012). A comprehensive study of polymorphisms in *ABCB1*, *ABCC2* and *ABCG2* and lung cancer chemotherapy response and prognosis. *International Journal of Cancer*, no. 12, pp. 2920-2928.
9. Melguizo, C., Prados, J., Luque, R., Ortiz, R., Rama, A. R., Caba, O., Aránega, A. (2013). Modulation of multidrug resistance gene expression in peripheral blood mononuclear cells of lung cancer patients and evaluation of their clinical significance. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, no. 2, pp. 537-541.

**ВЛИЯНИЕ ГЛУТАТИОНИЛИРОВАНИЯ И КАРБОНИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ НА
ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Р.И. Чильчигашев, Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая

Научные руководители: профессор, д.м.н. Е.А. Степовая, к.м.н. Е.В. Шахристова

Сибирский государственный медицинский университет,

Россия, г.Томск, Московский тракт, 2, 634050

E-mail: shaxristova@yandex.ru

**THE IMPACT OF PROTEIN GLUTATHIONYLATION AND CARBONYLATION ON BREAST
CANCER CELL PROLIFERATION**

R.I. Chil'chigashev, E.V. Shakhristova, E.A. Stepovaya

Scientific Supervisors: Prof., Dr. E.A. Stepovaya, E.V. Shakhristova

Siberian state medical university, Russia, Tomsk, Moskovky tract, 2, 634050

E-mail: shaxristova@yandex.ru

***Abstract.** The study is aimed at identifying the role of reversible and irreversible oxidative modification of proteins in regulating MCF-7 breast cancer cell proliferation, with the cells being treated with an SH group blocking agent – N-ethylmaleimide (NEM). It was found out that NEM-treated MCF-7 cells had impaired DNA replication due to carbonylation of intracellular proteins, in particular, proteins regulating cell proliferation. Glutathionylation of redox-sensitive protein molecules is a mechanism that maintains structural and functional properties of proteins, while protecting them from free radical-mediated oxidation, and contributes to cells avoiding apoptosis.*

Большое внимание исследователей привлекает изучение механизмов опухолевой прогрессии и ускользания от апоптотической гибели, реализующиеся в результате действия экзогенных и эндогенных факторов. Изменение редокс-статуса опухолевых клеток в следствие нарушения соотношения свободно-радикальных и антиоксидантных процессов, отразится на функционировании ряда редокс-чувствительных белков, регулирующих пролиферацию клеток. Цель работы – установление роли обратимой (глутатионилирование) и необратимой (карбонилирование) окислительной модификации белков в регуляции пролиферации клеток линии MCF-7 при изменении редокс-статуса.

Исследования были выполнены с использованием опухолевой клеточной линии MCF-7 (эпителиоподобная аденокарцинома молочной железы человека), полученной из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург). Опухолевые клетки линии MCF-7 культивировали адгезионным методом в полной питательной среде. Жизнеспособность клеток оценивали микроскопическим методом с трипановым синим («Serva», США). Изменение редокс-статуса клеток линии MCF-7 осуществляли добавлением в среду инкубации N-этилмалеимида (NEM, «Sigma Aldrich», США), необратимо связывающего SH-группы белков и пептидов, в конечной концентрации 5 мМ [1]. Интенсивность необратимой окислительной модификации протеинов в клетках линии MCF-7 определяли по содержанию карбонильных производных белков методом, основанном на реакции

взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, которые регистрировали спектрофотометрически [2]. Глутатионирование белков (обратимая окислительная модификация протеинов) оценивали по концентрации белково-связанного глутатиона, определяемого после предварительного высвобождения трипептида боргидратом натрия из связи с белками спектрофотометрическим методом. Содержание восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона в клетках линии MCF-7 оценивали методом, предложенным М.Е. Anderson (1985) в модификации I. Rahman et al. (2006) [3]. В результатах исследования приводили только величину отношения GSH/GSSG, поскольку она отражает редокс-статус клетки. Содержание активных форм кислорода (АФК) определяли методом проточной цитофлуориметрии на проточном лазерном цитометре «FaCSCanto II» («Becton Dickinson», США). Внутриклеточное содержание циклина E и циклинзависимой киназы 2 определяли методом вестерн-блоттинга с использованием моноклональных антител («Sigma Aldrich», США, «Abcam», США) по протоколу фирмы производителя. Оценку распределения клеток линии MCF-7 по фазам клеточного цикла проводили методом проточной цитофлуориметрии по протоколу Cycle Test Plus («Becton Dickinson», США). Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы SPSS 11.0. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,01$.

Культивирование клеток линии MCF-7 в присутствии NEM приводило к накоплению АФК и снижению редокс-статуса (табл. 1), что отражает увеличение свободно-радикального окисления в опухолевых клетках молочной железы под действием блокатора SH-групп. Необратимое связывание тиоловых групп приводило к снижению ($p < 0,01$) содержания белково-связанного глутатиона по сравнению с интактной культурой вследствие повышения потребности клеток в свободном GSH, необходимом для функционирования ферментов антиоксидантной системы защиты (табл. 1). При снижении антиоксидантной защиты под действием NEM, белки в клетках линии MCF-7 подвергались необратимому окислению – карбонилированию. Так, нами обнаружено увеличение ($p < 0,01$) концентрации карбонильных производных белков при длинах волн 274 нм и 363 нм в условиях спонтанного и металл-катализируемого окисления протеинов по сравнению с уровнем окислительной модификации белков в интактных клетках (табл. 1). Смещение редокс-статуса в клетках линии MCF-7 под действием NEM в сторону окисления и увеличение содержания карбонилированных белков, приводили к нарушениям в прохождении клеток аденокарциномы молочной железы по фазам клеточного цикла: их накопление в S фазе и снижение количества в G_0/G_1 фазах ($p < 0,01$) по сравнению с интактными опухолевыми клетками (табл. 1). Остановка клеточного цикла в S фазе при действии NEM может быть результатом изменения активности ряда белковых комплексов, регулирующих пролиферацию, в частности циклин E/циклинзависимая киназа 2 и циклин A/циклинзависимая киназа 2, либо концентрации и структуры этих протеинов в отдельности. Можно предположить, что защита SH-групп белков-регуляторов пролиферации с помощью обратимой модификации – глутатионирования, способствует ускользанию опухолевых клеток от апоптотической гибели.

Глутатионирование белков в клетках линии MCF-7, являясь механизмом защиты протеинов от свободнорадикального окисления, способствует неконтролируемой пролиферации и ускользанию опухолевых клеток от апоптоза вследствие поддержания нативной структуры и функций белков-

регуляторов пролиферативной активности клеток. Карбонилирование белков под действием N-этилмалеимида приводило к нарушению процессов репликации молекул ДНК, обусловленных

Таблица 1

Изменение показателей пролиферации клеток линии MCF-7 и окислительной модификации белков при действии блокатора SH-групп белков N-этилмалеимида (NEM), Me (Q₁-Q₃)

| Показатели | | | Группы | |
|---|--|----------|------------------------|-------------------------|
| | | | Интактные MCF-7 | MCF-7 + NEM |
| Активные формы кислорода, условные единицы | | | 0,81 (0,80-0,83) | 2,35* (2,25-2,50) |
| Величина отношения GSH/GSSG | | | 9,71 (9,55-9,73) | 4,45* (3,66-4,47) |
| Белково-связанный глутатион, нмоль/мг белка | | | 0,17 (0,16-0,22) | 0,11* (0,10-0,12) |
| Количество клеток в G ₀ /G ₁ фазе, % | | | 56,37 (55,89-56,57) | 40,27* (38,04-41,39) |
| Количество клеток в G ₂ /M фазе, % | | | 7,92 (5,82-10,11) | 10,03 (9,43-10,51) |
| Количество клеток в S фазе, % | | | 36,40 (34,43-37,67) | 50,29* (48,59-52,05) |
| Карбонильные производные белков, условные единицы./мг белка | Спонтанная окислительная модификация белков | λ=274 нм | 4,52 (3,26-7,34) | 20,21* (13,76-20,61) |
| | | λ=363 нм | 5,48 (5,01-6,28) | 26,91* (26,22-28,36) |
| | Металл-катализируемая окислительная модификация белков | λ=274 нм | 16,34 (15,27-19,38) | 29,88* (29,21-32,16) |
| | | λ=363 нм | 20,22 (20,09-20,84) | 35,41* (32,72-38,98) |

Примечание: * – p<0,01, уровень значимости различий по сравнению с интактными клетками MCF-7

изменениями функциональной активности редокс-чувствительных белков, в частности транскрипционных факторов, циклинов и циклин-зависимых киназ. Полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы для разработки подходов таргетной терапии злокачественных новообразований молочной железы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского гуманитарного научного фонда в рамках научного проекта «Тиоредоксин и глутаредоксин – как молекулярные маркеры возникновения и развития опухолей молочной железы» № 15-36-01289.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sahaf, B., Heydari, K., Herzenberg, L.A. (2003). Lymphocyte surface thiol levels. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, no. 7, pp. 4001–4005.
2. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма. – Санкт-Петербург: Фолиант, 2000. – 103 с.
3. Rahman, I., Kode, A., Biswas, S.K. (2006). Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. Nat. Protoc., no. 6, pp. 3159–3165.

ВЛИЯНИЕ ПРОШЛОГО ОПЫТА НА НЕЙРОГЕНЕЗ У МЫШИ

В.В. Широкова, М.С. Кудабаяева, С.Р. Джафарова

Научный руководитель: Н.М. Немирович-Данченко

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: vera.shirokova_9@mail.ru

IMPACT OF PAST EXPERIENCE ON THE NEUROGENESIS IN MICE

V.V. Shirokova, M.S. Kudabayeva, S.R. Jafarova

Scientific Supervisor: N.M. Nemirovich-Danchenko

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: vera.shirokova_9@mail.ru

***Abstract.** The present study found that the past experience of the animal influences the formation of new neurons. These neurons may be involved in storage, consolidation or modification of the information already received. We can also assume that the increase in the number of new neurons after the acquisition of new experiences reflects an improvement in the animals' cognitive abilities.*

Известно, что в мозге взрослых млекопитающих постоянно происходит образование новых нервных клеток [1]. Интенсивно исследуется то, как обновление нейронального состава влияет на когнитивные процессы в головном мозге. Большинство работ в этой области посвящены связи нейрогенеза с текущим обучением [2, 3, 4, 5]. Наше исследование посвящено изучению связи между образованием новых нейронов и ранее приобретенной информацией.

Проводилось обучение животных с предъявлением одорантов, и оценивалось количество новых нейронов, образовавшихся после обучения в обонятельной луковице. Исследование проводили на самцах мышей линии C57BL/6. Мыши учились находить приманку в чашечке с песком. У части животных получение приманки было сопряжено с предъявлением L-изоформы лимонена, но не с D-изоформой (группа «ассоциативное обучение»). У другой части животных каждая изоформа лимонена подкреплялась/не подкреплялась случайным образом (группа «перцептуальное обучение»). В качестве контроля служили животные, которые искали приманку без предъявления запахов. За месяц периода обучения мыши из группы «ассоциативное обучение» научились почти безошибочно различать 2 изоформы лимонена (Рисунок 1). После завершения обучения внутрибрюшино вводили инъекции бромдезоксисуридина, который является маркером новых клеток, поскольку встраивается в *de novo* синтезирующуюся ДНК. Через месяц после окончания обучения животные были забиты. В гистохимическом анализе использовали обонятельные луковицы. С помощью антител проводили мечение следующих маркеров: даблкортин (белок, синтезирующийся в новых нейронах в возрасте до 3 недель), бромдезоксисуридин (содержался в клетках, которые образовывались в период инъекций, то есть в тех, которые на момент забоя животных были в возрасте около месяца). Для доказательства того, что клетка, содержащая бромдезоксисуридин, является нейроном метили белок – NeuN,

экспрессирующийся во всех зрелых нейронах в возрасте от 3 недель. Оценка совместной локализации бромдезоксисуридина с NeuN осуществлялась с помощью лазерно-сканирующей микроскопии.

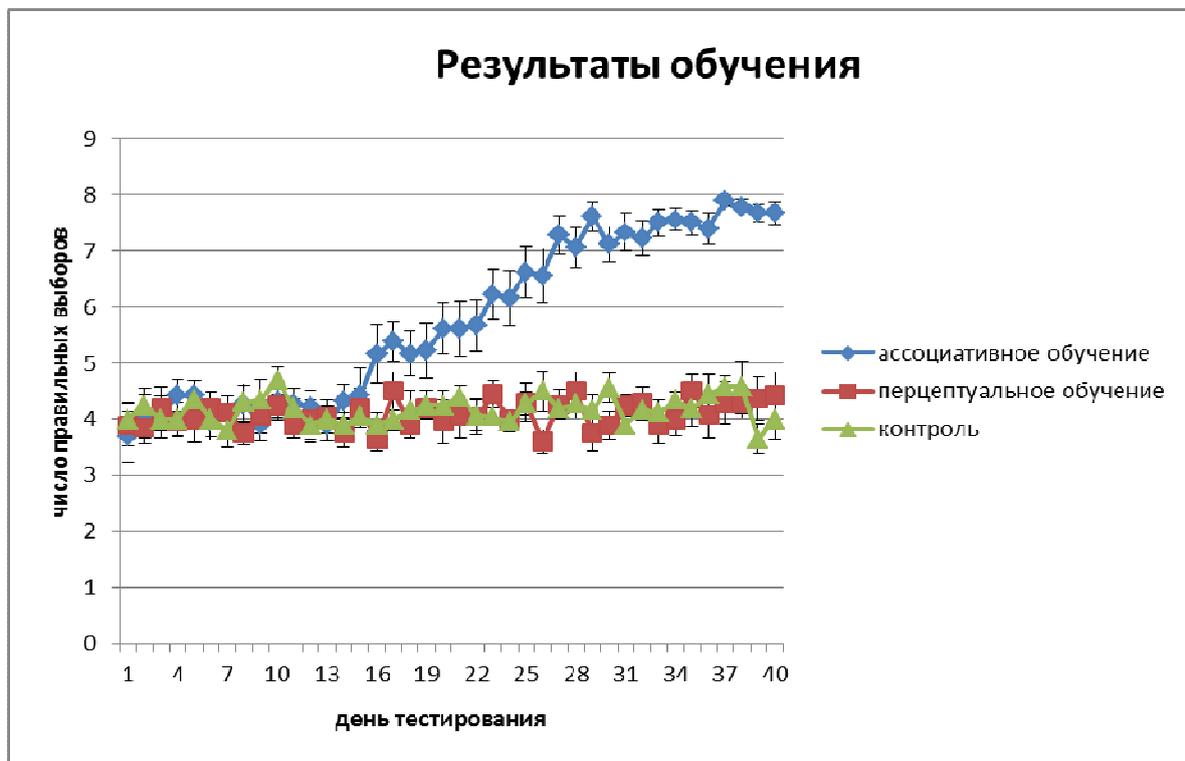


Рис. 1 Результаты обучения мышей

Иммуногистохимическое исследование ткани обонятельной луковицы выявило влияние опыта животного на уровень нейрогенеза. Хотя между группами не наблюдалось различий по плотности даблкортин-содержащих клеток (Рисунок 2), плотность клеток, содержащих бромдезоксисуридин, была значимо выше у группы «перцептуальное обучение», по сравнению с контролем (Рисунок 3). Экспериментальные группы не различались по проценту нейронов среди клеток, содержащих бромдезоксисуридин (Рисунок 3). Следовательно, наблюдаемое увеличение количества новых клеток произошло, в том числе, и за счёт образования новых нейронов.

Биологическое значение выявленного влияния прошлого опыта на образование новых нейронов неясно. Возможны две различные интерпретации. Во-первых, новые нейроны могут участвовать в хранении, консолидации или модификации ранее полученной информации. Кроме того, увеличение числа новых нейронов может быть средством улучшения когнитивных способностей животного. К последней интерпретации нас склоняет тот факт, что повышение нейрогенеза наблюдается только в группе «перцептуальное обучение», в которой каждая изоформа лимонена была то сопряжена, то не сопряжена с подкреплением. То, что животные из этой группы не нашли связь между запахом и подкреплением, могло послужить стимулом к повышению уровня нейрогенеза.

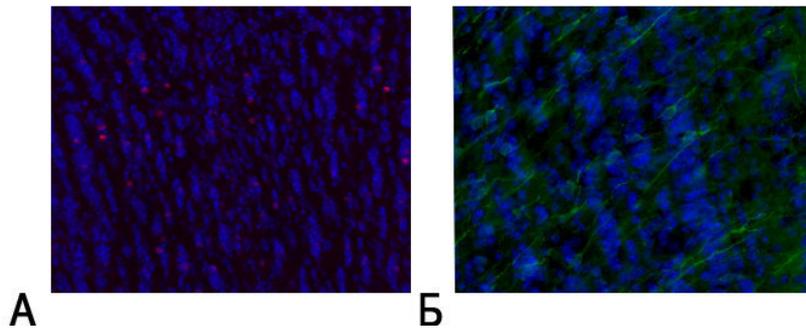


Рис. 2 Иммуногистохимическое окрашивание срезов мозга. А – мечение бромдезоксидуридина. Б – мечение даблкортина (Голубой цвет – DAPI окрашивает хроматин, зеленый цвет – AlexaFlour 488 метит даблкортин. Красный цвет – AlexaFlour 594 метит бромдезоксидуридин)

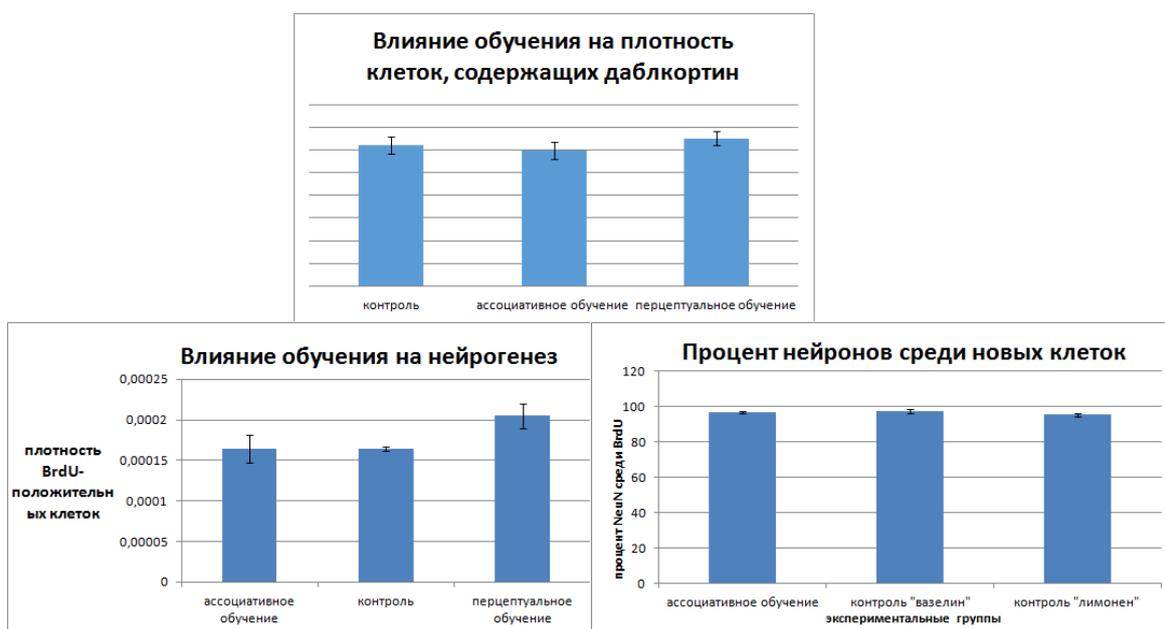


Рис. 3 Влияние обучения на нейрогенез.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Imayoshi I. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain // Nat. Neurosci. – 2008. – № 11. – С. 1153–1161.
2. Kee N., Teixeira C. M., Wang A. H. Frankland P. W. Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus // Nat. Neurosci. – 2007. – № 10. – С. 355–362.
3. Tashiro A., Makino H. Gage F. H. Experience-Specific Functional Modification of the Dentate Gyrus through Adult Neurogenesis: A Critical Period during an Immature Stage // J. Neurosci. – 2007. – № 27. – С. 3252–3259.
4. Trouche S., Bontempi B., Rouillet P., Rampon C. Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2009. – № 106. – С. 5919–5924.
5. Gu Y. Optical controlling reveals time-dependent roles for adult-born dentate granule cells // Nat. Neurosci. – 2012. – № 15. – С. 1700–1706.

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТОВ ИЗ ГРУППЫ ПРОСТРАНСТВЕННО
ЗАТРУДНЕННЫХ ФЕНОЛОВ**

П.П. Щетинин¹, А.П. Щетинина²

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

² Сибирский государственный медицинский университет,
Россия, г. Томск, ул. Московский тракт, 2, 634050

E-mail: wospp@ya.ru

**PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF DRUGS FROM THE GROUP STERICALLY
HINDERED PHENOLS**

P.P. Shchetinin¹, A.P. Shchetinina²

¹ National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina ave., 36, 634050

² Siberian State Medical University, Russia, Moskovsky trakt st., 2, 634050

E-mail: wospp@ya.ru

***Abstract.** This article provides an overview of Pharmacological properties of drugs from the group sterically hindered phenols, represented currently on the pharmaceutical market. The consequence based on conclusions is the importance of this group of drugs for medicine and potential feasibility of the development of new medicines with a multivalent action based on it.*

Пространственно затрудненные фенолы (ПЗФ) образуют группу веществ, обладающих специфическими эффектами и имеющих большие перспективы использования в фармакологии и фармацевтике. В настоящее время из группы ПЗФ широкое применение в медицинской практике нашли только два препарата – пробукол и бутилгидрокситолуол (ионол, дибунол, тонарол) [1].

Пробукол (4,4'-[(1-метилэтилиден)бис(тио)]бис[2,6-бис(1,1-диметил) фенол] представляет собой пространственно затрудненный серусодержащий бисфенол. Препарат обладает антиоксидантной активностью, нормализует обмен липидов, оказывая гиполипидемический и гипохолестеринемический эффекты. Опубликованные результаты фармакологического исследования препарата объективно показывают, что ингибирование атерогенеза в немалой степени связано именно с его антиоксидантной активностью. Пробукол защищает липопротеины низкой плотности (ЛНП) от перекисного окисления, подавляя образование «пенистых» клеток во внутренней оболочке артерий. Ингибирование окисления и понижение накопления ЛНП в тканях при терапии пробуколом представляют собой важнейшие факторы в предотвращении развития атерогенеза [2].

Антиоксидантные и антирадикальные свойства пробукола, как и у других ПЗФ, реализуются не только напрямую посредством связывания свободных радикалов с образованием малоактивных феноксильных радикалов, но также и опосредованно – путем повышения в тканях активности собственной антиоксидантной системы организма [3].

Исследована и показана кардиопротективная активность пробукола на модели острой ишемии/реперфузии сердечной мышцы у крыс. Пробукол снижал ишемические и постреперфузионные повреждения миокарда, статистически значимо повышал выживаемость животных в постреперфузионном периоде. Было отмечено, что положительное влияние пробукола на течение патологии в условиях модели достигалось не только лишь за счет антиоксидантных свойств препарата и способности образовывать синергетические системы с эндогенными антиоксидантами, но и за счет улучшения энергетического состояния сердца. Применение пробукола при ишемической болезни сердца снижало частоту приступов стенокардии, количество потребляемого нитроглицерина и, как следствие, стабилизировало течение стенокардии [2].

Эндотелийпротективная активность пробукола изучена на модели гипохлорит-индуцированной и 5-фторурацил-индуцированной эндотелиальной дисфункции, а также в условиях гиперхолестеринемии у кроликов и подтверждена в ходе клинических исследований на больных с острым коронарным синдромом [2].

Одним из первых синтезированных представителей группы ПЗФ (1921 г.) является бутилгидрокситолуол (ионол, дибунол, тонарол). В лечебных целях этот «классический ПЗФ» используется в России с 50-х годов XX века. Ионол как антиоксидант весьма популярен и производится во многих странах мира.

Актуальность применения ионола в клинической кардиологии доказана в многочисленных доклинических и клинических исследованиях. Экспериментально доказано, что препарат при модели инфаркта миокарда у животных способствовал уменьшению зоны гипоперфузии и некроза сердечной мышцы. Ионол хорошо растворим в липидах мембран и поэтому легко проникает в кардиомиоциты, где может быть полезен для коррекции состояний, сопровождающихся интенсификацией перекисного окисления липидов (ПОЛ), в том числе и при острой коронарной недостаточности [2].

Имеются объективные данные, доказывающие сокращение частоты эпизодов стенокардии, ослабление выраженности сердечной недостаточности, восстановление сердечного ритма при применении ионола. Также ионол уменьшает коагуляционную способность крови, увеличивая время свертывания крови и протромбиновое время, снижает активность тромбоцитарных и эритроцитарных факторов коагуляции крови. Ионол способствует нормализации микровязкости мембран, активизирует неспецифические эстеразы и холинэстеразы, но понижает активность лактатдегидрогеназы. Путем ингибирования свободнорадикальных окислительных процессов ионол может играть значительную роль при окислительном стрессе [2].

ПЗФ и, в частности, ионол, изучены в качестве возможных противоопухолевых средств. Основанием для этих исследований послужили данные об участии в механизмах возникновения канцерогенеза свободных радикалов и активизации процессов ПОЛ в опухолевых клетках. Более того, многие способы и средства лечения онкологических больных (лучевая терапия, цитостатики и др.) также способствуют активизации процессов ПОЛ. В связи с этим антиоксиданты могут быть эффективными средствами терапии сопровождения при специфическом лечении противоопухолевыми средствами.

Ионол подавляет окислительно-восстановительные процессы в клетках опухоли, снижает в них выработку РНК и поэтому уменьшает биосинтез белка. Установлено, что ионол более активен по

отношению к ферментам гликолиза. Дополнительным механизмом ионола является его способность стимулировать фагоцитоз и некоторые факторы неспецифического иммунитета [2].

Описаны и другие виды активности ионола, которые могли бы расширить применение препарата в медицине. Например, ионол в эксперименте приводил к снижению уровня гормонов щитовидной железы у возрастных животных, вследствие этого восстанавливались процессы дезаминирования азотистых соединений в миокарде при экспериментальном гипертериозе. Показано геронтопротекторное действие ионола как в доклинических экспериментах на крысах, так и в клинических испытаниях на людях [4].

Доказана возможность применения ионола и в гастроэнтерологической практике. Установлена его антиульцерогенная активность при экспериментальных язвах желудка и 12-перстной кишки, вызванных применением ацетилсалициловой кислоты, индометацина, резерпина, бугадиона или провоцированием иммобилизационного стресса у животных, а также энтероцитопротективная активность при радиационном поражении кишечника [5]. Это очевидно связано не только с антиоксидантными свойствами ионола, но и со способностью препарата повышать содержание нуклеиновых кислот в слизистой оболочке желудка.

Кроме того, доказана перспективность использования ионола при катаракте глаза в связи с бесспорной свободнорадикальной теорией происхождения болезни [4].

Ионол, зарегистрированный и разрешенный к обращению на территории Российской Федерации, показан для местного применения в виде внутрипузырных инстилляций при лечении папилломатоза или рака мочевого пузыря. Также он может быть использован при циститах, поверхностных ожогах и обморожении кожи легкой степени, в лечении длительно незаживающих трофических и лучевых язвах, вяло гранулирующих ранах [1].

Таким образом, ПЗФ, являясь сильными антиоксидантами, обладают широким спектром биологической активности, что в сочетании с низкой токсичностью делают перспективной их применение в медицине, а также разработку на их основе новых отечественных лекарственных средств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения Российской Федерации. – Электрон. Дан. – М. – URL: <http://www.grls.rosminzdrav.ru/> (дата обращения 1.03.2016).
2. Щетинин П.П. Кардиопротективная активность 4-метил-2,6-диизоборнилфенола при экспериментальной ишемии/реперфузии миокарда: дис. ... канд. биол. наук. – Томск, 2015. – 127 с.
3. Щетинин П.П. Противоаритмическая активность диборнола в условиях модели острой ишемии – реперфузии миокарда // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12. – № 3. – С. 153–156.
4. Сторожок Н.М. Сравнительная характеристика эффективности и механизма действия ряда гибридных антиоксидантов нового поколения // Биоантиоксидант: тезисы докладов VII Международной конференции. – М. : РУДН, 2006. – С. 16–30.
5. Юнусов Р.В. Тонарол в лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Р.В. Юнусов, С.З. Габитов, В.М. Чесновский // Вестник современной клинической медицины. – 2010. – Т. 3, № 2. – С. 41–43.

Научное издание

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Сборник научных трудов
XIII Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

Издано в авторской редакции

Компьютерная верстка С.А. Поробова
Редактор Г.А. Воронова, И.А. Курзина

Тираж 100 экз.



Национальный исследовательский
Томский политехнический университет
Система менеджмента качества
Издательства Томского политехнического
университета сертифицирована в соответствии с
требованиями ISO 9001:2008
. 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30
Тел./факс: 8(3822)56-35-35, www.tpu.ru

