



ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

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

РОССИЯ, ТОМСК, 21 – 24 апреля 2020 г.

Том 4. Биология и фундаментальная медицина

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

Abstracts
XVII International Conference of Students
and Young Scientists

RUSSIA, TOMSK, April 21 – 24, 2020

Volume 4. Biology and Fundamental Medicine



Национальный
исследовательский
Томский
государственный
университет



MINISTRY OF SCIENCE AND EDUCATION OF THE RUSSIAN FEDERATION

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

Abstracts

XVII International Conference of students, graduate students
and young scientists

April 21–24, 2020

Russia, Tomsk

Volume 4. Biology and fundamental medicine

Tomsk

Tomsk State University Publishing House
control system and radioelectronics

2020

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

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

21–24 апреля 2020 г.

Россия, Томск

Том 4. Биология и фундаментальная медицина

Томск
Издательство Томского государственного университета
систем управления и радиоэлектроники
2020

УДК 501:004 (063)
ББК 72:32.81л0
П27

Редакционная коллегия:

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

Перспективы развития фундаментальных наук : сборник научных трудов XVII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, 21–24 апреля 2020 г., Россия, Томск. В 7 т. Т. 4. Биология и фундаментальная медицина / Нац. исслед. Том. политехн. ун-т, Нац. исслед. Том. гос. ун-т, Том. гос. архитектурно-строит. ун-т, Томск. гос. ун-т систем упр. и радиоэлектроники, Том. нац. исслед. мед. центр РАН ; под ред. И.А. Курзиной, Г.А. Вороновой. – Томск : Изд-во Томск. гос. ун-та систем упр. и радиоэлектроники, 2020. – 93, [3] с.

ISBN 978-5-86889-868-6 (т. 4)

ISBN 978-5-86889-864-8

Сборник содержит труды участников XVII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук», представленные на секции «Биология и фундаментальная медицина».

Для студентов, аспирантов, молодых ученых и преподавателей, специализирующихся в области анатомии и физиологии, иммунологии, неврологии и психиатрии, клеточной биологии и гистологии, генетики, биохимии и молекулярной биологии, микробиологии и вирусологии, биофизики, биотехнологии, биоинженерии, фармакологии и фармакогнозии, кибернетики и биоинформатики, а также биоматериалов: исследований *in vitro* и *in vivo*.

УДК 501:004 (063)
ББК 72:32.81л0

Научное издание
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК
Сборник научных трудов XVII Международной конференции
студентов, аспирантов и молодых ученых

Подписано в печать 15.06.20. Формат 60x84/8.

Усл. печ. л. 11,16. Тираж 100. Заказ 126.

Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники.
634050, г. Томск, пр. Ленина, 40. Тел. (3822) 533018.

ISBN 978-5-86889-868-6 (т. 4)
ISBN 978-5-86889-864-8



Национальный
исследовательский
Томский
государственный
университет

АВТОНОМНАЯ МАГИСТЕРСКАЯ ПРОГРАММА «ТРАНСЛЯЦИОННЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ И БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ»



Химический
факультет



САЕ Институт («Умные
материалы и технологии»)

Направление подготовки
Факультет
Форма обучения

Химия
Химический факультет
Очная с элементами
дистанционного обучения
2 года
Русский
10

Продолжительность программы
Язык обучения
Бюджетные места

Условия приёма

Приём на первый курс магистратуры проводится на конкурсной основе по заявлениям лиц, имеющих высшее образование (бакалавриат или специалитет) по результатам вступительных испытаний.

Вступительные испытания: экзамен по химии, собеседование.

Магистерская программа включает возможность обучения по программе двойного диплома совместно с университетом Chemie Paris Tech (Франция). На 2-м курсе обучение осуществляется на площадках Chemie Paris Tech. За период обучения по одной программе магистратуры возможно получить дипломы двух Университетов, углублено освоить курсы химической технологии и инженерии материалов.

КЛЮЧЕВЫЕ ДИСЦИПЛИНЫ ПРОГРАММЫ

Основы общей
иммунологии

Введение в медицинскую
биологическую химию

Молекулярные методы
в биомедицинских
исследованиях

Элементы физической
химии в процессах
жизнедеятельности

Основы клеточной
биологии
и диагностики клеточных
систем

Химические технологии
в медицине.
Биоматериаловедение

Молекулярная онкология

Основы метрологии, стандартизации и сертификации в области разработки и производства фармацевтических субстанций и биомедицинских материалов

Магистратура «Трансляционные химические и биомедицинские технологии» – ЭТО:

- междисциплинарные знания на стыке химии, биологии, фармакологии, клеточной и молекулярной биомедицины
- компетенции по проведению доклинических и клинических испытаний, разработка технологического регламента, сертификации, маркетингу и малотоннажному производству продукта

- стажировки в ведущих мировых университетах
- диплом международного уровня
- работа с новыми технологиями
- освоение полного цикла получения продукта: синтез-исследование, доклинические исследования, сертификация, маркетинг

КОНТАКТЫ

Менеджер программы: **Шаповалова Елена**, +7 (953) 928 15 49, elenas6691@gmail.com
Заявки оставляйте на сайте: smil.tsu.ru/ru



chembiomed



chembiomed



chembiomed



ПРЕИМУЩЕСТВА ПРОГРАММЫ



Обучение современным химическим и биомедицинским технологиям осуществляется на базе научных центров ТГУ, г. Томска, университетов Гейдельберга и Мюнстера (Германия)



Ведущие зарубежные и российские специалисты



Индивидуальная образовательная траектория



Более 30% учебных дисциплин составляют курсы по выбору



Востребованность специалистов по трансляционным химическим и биомедицинским технологиям

ВЕДУЩИЕ ПРЕПОДАВАТЕЛИ



Курзина Ирина Александровна
Руководитель магистерской программы:

д.ф.м.н., доцент, профессор кафедры физической и коллоидной химии ХФ ТГУ, зам. заведующего лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, Томск, Россия.



Кижковская Юлия Георгиевна
Соруководитель магистерской программы:

д.б.н., профессор, зав. лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, Томск, Россия. Университет Гейдельберга, Медицинский факультет, Заведующая Отделом Врожденного Иммуитета и Иммунологической Толерантности Института Трансфузионной Медицины и Иммунологии, Маннгейм, Германия.



Рябов Вячеслав Валерьевич

д.м.н., заместитель директора по научной и лечебной работе НИИ кардиологии Томского НИМЦ, ведущий научный сотрудник лаборатории трансляционной и клеточной биомедицины НИ ТГУ.



Журина Елена Георгиевна

д.м.н., профессор кафедры органической химии ХФ ТГУ, врач иммунолог-аллерголог, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ, член российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов, Томск, Россия.



Хайнрих Лотар Альфред

д.х.н., в.н.с. лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины НИ ТГУ, Томск, Россия. President of marcotech oHG, Honorary professor of the Westphalian Wilhelms University, Muenster. Руководитель блока инновационных материалов для регенеративной медицины, Мюнстер, Германия.



BIOPHARMACEUTICAL COMPANY



APM



Фармконтракт группа компаний



ООО «АЛФАРМ»
(г. Москва)



UNIVERSITÄT HEIDELBERG
SEIT 1386

UNIVERSITEIT LEIDEN



PARITECH

- Тестирование
- 4 курс
- Бакалавриат
- 1 и 2 семестры
- TSU
- 3 и 4 семестры
- Chimie ParisTech
- 5 семестр
- СnPT
- стажировка
- 6 семестр
- Защита
- 2 диплома
- (TSU, Chimie ParisTech)



Chimie ParisTech + TSU
 Междисциплинарная
 магистерская программа
 двойного диплома



ТВОЯ
 образовательная
 траектория

**«Трансляционные химические
 и биомедицинские технологии»**



Chimie ParisTech (Франция) - французская высшая школа, член объединения ParisTech. Престижное образование в направлении химической технологии

Направление подготовки:
 техническое

Условия участия:

1. Средний балл успеваемости не ниже 4.5
2. Рекомендация декана факультета/научного руководителя
3. Уровень английского/французского языка не ниже upper-intermediate.

Форма обучения: очная

Продолжительность программы: 3 года

Язык обучения: французский, английский

При успешном окончании программы двойного диплома, студенты Chimie ParisTech дополнительно получают степень магистра в ТГУ, а студенты ТГУ дополнительно получают степень «Diplôme d'Ingénieur de Chimie ParisTech» в Chimie ParisTech (соответствует степени магистра в области инженерных наук).

WWW: <http://smti.tsu.ru/ru/diplome-dingénieur-de-chimie-paristech/>
 Телефон: + 7 (3822) 78 56 21
 E-mail: gulnara.voronova@gmail.com

СОДЕРЖАНИЕ

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF MONODORA MYRISTICA (AFRICAN NUTMEG) AND TETRAPLEURA TETRAPTERA (AIDAN FRUIT) ESSENTIAL OILS AND OLEORESINS Q.N. Okechukwu	7
ВЛИЯНИЕ ВОДНО-СПИРТОВОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ТРАВЫ <i>EUPATORIUM CANNABINUM</i> L. НА ЭМОЦИОНАЛЬНУЮ РЕАКЦИЮ МЫШЕЙ И.М. Баркин	10
ФАРМАКОКИНЕТИКА СЛОЖНОЭФИРНОГО ПРОИЗВОДНОГО ИНДОМЕТАЦИНА А.В. Быкова, В.В. Быков	13
ОЦЕНКА РОЛИ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ, АЛЬДОСТЕРОНА И ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ ХРОНИЧЕСКОГО ХОЛОДОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ Н.С. Воронков, С.Ю. Цибульников	16
АНАЛИЗ АБЕРРАЦИЙ ЧИСЛА КОПИЙ ДНК ГЕНА PRR1 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Д.С. Долгашева, М.К. Ибрагимова, М.М. Цыганов	19
ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ PD-1 И PD-L1 НА ЛЕЙКОЦИТАХ МЫШЕЙ С КАРЦИНОМой ЛЕГКИХ ЛЬЮИС ПОД ВЛИЯНИЕМ ПОЛИСАХАРИДОВ <i>TUSSILAGO FARFARA</i> L. А.Р. Дягель, Е.А. Сафонова	22
ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК IN VITRO С ПОМОЩЬЮ ПЛАЗМЫ ГАЗОВОГО РАЗРЯДА А.А. Евтина, В.О. Нехорошев	25
ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КАПСУЛ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА КЛЕТКАМИ А.В. Захорольная, А.Н. Парфененкова, А.Р. Бухарев	28
ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С АМПЛИФИКАЦИЕЙ ДЛИННОГО ПЛЕЧА 8 ХРОМОСОМЫ М.К. Ибрагимова, А.М. Певзнер, М.М. Цыганов	31
ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ БЕЛКОВ CD8 И IL35 В СТРОМЕ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ Е.О. Казакова, И.В. Ларионова, М.А. Ракина	34
ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРА C-JUN N-ТЕРМИНАЛЬНОЙ КИНАЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА У КРЫС О.А. Кайдаш, Е.Е. Буйко, А.Р. Коврижина	37
ЛОКАЛЬНАЯ ГЕМОДИНАМИКА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ Н.В. Киреева	40
ФИЗИЧЕСКИЙ СТАТУС ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР РИСКА РЕЦИДИВИРОВАНИЯ У ВПЧ16-ПОЗИТИВНЫХ БОЛЬНЫХ С ЦЕРВИКАЛЬНЫМИ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ Е.В. Кокорина, М.К. Ибрагимова, М.М. Цыганов	43
РАЗРАБОТКА И ТЕСТИРОВАНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО СОСУДИСТОГО ПРОТЕЗА С ВНЕШНИМ АРМИРУЮЩИМ КАРКАСОМ Е.О. Кривкина, М.А. Резвова, В.В. Севостьянова	46
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ (<i>ARONIA MELANOCARPA</i>) НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМой ЛЕГКИХ ЛЬЮИС С СОПУТСТВУЮЩИМ ИНДУЦИРОВАННЫМ АНЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ А.А. Кривоченко, О.Ю. Рыбалкина, Е.П. Федорова	49
РОЛЬ АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ В РЕАЛИЗАЦИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕРДЦА В МОДЕЛИ СИНДРОМА ТАКОТСУБО Б.К. Курбатов А.П. Никифоров	52
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ИЗОТОПНЫХ ЭФФЕКТОВ МАГНИЯ В МОРФОЛОГИИ БАКТЕРИЙ <i>E. COLI</i> У.Г. Летуа	55

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ МИКРОРНК В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ К.В. Маннанова, А.А. Зарубин	58
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРА ИНДУЦИРУЕМОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА ПРОИЗВОДНОГО АМИНОГУАНИДИНА ПРИ МОДЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ЯЗВЕННОГО КОЛИТА В.С. Мотов	61
СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОГЕЛЕЙ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН ГИДРОХЛОРИДА ПО ОТНОШЕНИЮ К ЭКСТРАКТАМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ О.С. Очиров, Т.А. Туртуева, М.Н. Григорьева	64
МОДУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В АНТИПАРАЗИТАРНОЙ ТЕРАПИИ ИНВАЗИИ ORISTHORSCHIS FELINEUS Е.А. Перина, Е.Е.Буйко	67
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТЕЙ МАТЕРИАЛОВ С МНОГОСТЕННЫМИ УГЛЕРОДНЫМИ НАНОТРУБКАМИ НА АДГЕЗИОННЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ E. COLI А.П. Попов, А.И. Димитриева, Д.С. Юманов	70
ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТОТИПА АНТИМИКОТИКА НА ОСНОВЕ КЛОТРИМАЗОЛА Ю.Д. Разгуляева, Д.А. Федоришин	73
ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ИНДЕКСОМ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ И ТРИСОМИЕЙ 16 У СПОНТАННЫХ АБОРТУСОВ Е.С. Сердюкова, О.Ю. Васильева, Д.И. Жигалина	76
ПРЕДИКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТРУДНОГО ТЕМПЕРАМЕНТА В ПЕРИОД РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА А.В. Силаева, О.В. Терехина, С.Б. Лещинская	79
КОМПОЗИТНЫЕ ФТОРПОЛИМЕРНЫЕ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ Т.Т. Твердохлебова, М.Ю. Ханова	82
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ ЦИНКА НА БИОСОВМЕСТИМОСТЬ ГИДРОКСИАПАТИТА Д.А. Федоришин, А.А. Гуцалова, Д.Н. Лыткина	85
ИЗУЧЕНИЕ АНТИГРИБНОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ КЛОТРИМАЗОЛА Э.Е. Черникова, Д.А. Федоришин	88
ВЛИЯНИЕ ЦИСПЛАТИНА НА МОДЕЛЬНЫЕ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ МАКРОФАГИ П.С. Ямщиков, И.В. Ларионова, Е.О. Казакова	91

**ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF MONODORA MYRISTICA (AFRICAN NUTMEG) AND
TETRAPLEURA TETRAPTERA (AIDAN FRUIT) ESSENTIAL OILS AND OLEORESINS**

Q.N. Okechukwu^{1,2}

Scientific Supervisors: Prof. Dr. E.G. Kovaleva¹, Dr. F.U. Ugwuona²

¹Ural Federal University, Russia, Ekaterinburg, Mira str., 19, 620002

²Michael Okpara University of Agriculture, Umudike, Nigeria

E-mail: queencyokechukwu@gmail.com

**АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ MONODORA MYRISTICA (AFRICAN
NUTMEG) И TETRAPLEURA TETRAPTERA (AIDAN FRUIT) И ОЛЕОСМОЛ**

Q.N. Okechukwu^{1,2}

Научные руководители: проф. д-р Е.Г. Ковалева¹, д-р Ф.У. Угвуона²

¹Уральский федеральный университет, Россия, Екатеринбург, ул. Мира, 19, 620002

²Сельскохозяйственный университет им. Майкла Окпара, Умудике, Нигерия

E-mail: queencyokechukwu@gmail.com

Аннотация: Целью данного исследования было оценить антимикробные свойства эфирных масел *Monodora myristica* (семена) и *Tetrapleura tetrapetra* (фрукты) и олеосмол. Антибактериальную активность двух пряничных эфирных масел и олеосмол определяли в отношении двух микроорганизмов *E. coli* и *S. aureus*. Жизнедеятельность *E. coli* ингибировалась только олеосмолами с зонами от 12 до 15 мм при разных концентрациях. Два пряничных масла показали дозозависимый бактерицидный эффект в отношении *E. coli* (от 6,65 до 0,00 × 10⁷ КОЕ / мл) и *S. aureus* (от 9,05 до 0,00 × 10⁷ КОЕ / мл). Золотистый стафилококк показал меньшую восприимчивость к двум пряничным олеосмолам и эфирным маслам, чем кишечная палочка.

Introduction. Foods are perishable by nature and require protection from spoilage during preparation, storage and distribution to extend their desired shelf-life if not to be consumed immediately [1]. As a result of increasing rural-urban migration, most foods produced in rural areas must be preserved to reach the urban population in safe and acceptable forms. Several chemical antimicrobial agents including Lactic acid bacteria (LAB), Chitosan, butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) have been in use to preserve food [2]. However, due to reported cases of breakdown of such chemical preservatives to toxic residues in the food most chemical preservatives are being rejected and natural antimicrobial agents are currently preferred for preservative purposes. Spices are one of such several plant materials exploited for their natural antimicrobial activities. The aim of this study is to extract essential oils and oleoresins from two local spices *Monodora myristica* and *Tetrapleura tetrapetra* and evaluate their antimicrobial effects as potential sources of microbial preservatives.

Materials and Methods. *Monodora myristica* seeds were cracked manually to recover the nibs while fruits of *Tetrapleura tetrapetra* were cut into small pieces. Each spice was ground into coarse particles using Hammer mill (Betsch 5657 GmbH, Germany) for essential oil extraction and fine powder for oleoresin extraction. Using the method of [3], the essential oils were extracted using steam distillation and the oleoresins were extracted using the

maceration technique. Species of Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 27840) and Gram-negative bacteria (*Escherichia Coli* 0157) gotten from the University of Nigeria, Nsukka was routinely used for the antimicrobial screening. The survival growth of the microorganisms was monitored for 5 days using nutrient agar (Techno Pharmchem, Vardhman, India) plate. The zone of inhibition of the samples was determined using Agar well diffusion. The analysis was done in triplicates and the means were separated using Minitab statistical software.

Results and Discussion. The antimicrobial activities of essential oils and oleoresins against the microorganisms examined in the present study and their potency were qualitatively assessed by the presence or absence of inhibition zones. The antibacterial assay result shows that the oleoresins of *M. myristica* and *T. tetrapetra* have better antibacterial activities as shown in Table 1. *S. aureus* showed no zone of inhibition to any concentrations of the oils and resins of the spices. The oils of both spices and the oleoresins at 25 µg/ml showed no zone of inhibition against *E. coli*. However, *Escherichia coli* was sensitive to the oleoresins at 50 µg/ml and 75 µg/ml, showing inhibition from 12-15 mm to both spices. In their work [4] recorded an inhibition zone of 8 and 13 mm for 2.5 and 5.0 mg/ml respectively of *M. myristica* against *E. coli*. The variation could be due to differences in the active compounds present in the spices and the degree of solubility of these active compounds in the oils.

Table 1

Zone of inhibition (mm) of *Mondora myristica* and *Tetrapleura tetraptera* essential oils and oleoresins

	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Extract concentrations					
Spices	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml
<i>Monodora myristica</i> Oleoresin	—	13	15	—	—	—
<i>Tetrapleura tetraptera</i> Oleoresin	—	12	13	—	—	—
<i>Monodora myristica</i> Oil	—	—	—	—	—	—
<i>Tetrapleura tetraptera</i> Oil	—	—	—	—	—	—

Table 2 shows the growth of the pathogens *E. coli* and *S. aureus* incubated at 37°C for 5 days. Data derived from the nutrient agar plate was used to detect potential cell injury due to exposure to spice essential oils and oleoresins. Growth of *E. coli* and *S. aureus* were faster in the oils of both spices than in the oleoresins. Pathogen population was higher in *T. tetraptera* oil as it couldn't inhibit the microbes, it had 2.15×10^5 and 1.53×10^5 Cfu/ml (*E. coli*), and 2.5 and 2.03×10^5 Cfu/ml (*S. aureus*) at 25 and 50 µg/ml respectively on the 3rd day and increased to 7.05 and 6.10×10^5 *E. coli* and *S. aureus* for both concentrations on the 5th day. There was no growth found in *T. tetraptera* oleoresin (3rd day) and *M. myristica* oleoresin (3rd and 5th day). There was growth at 25 and 50 µg/ml for the pathogen *S. aureus* at 6.51 and 4×10^7 Cfu/ml for the *M. myristica* oil and 1.5×10^4 Cfu/ml at 25 µg/ml for *T. tetraptera* oleoresin on the 5th day. It reveals that Gram-positive bacteria are more sensitive to essential oils or antibacterial compounds than Gram-negative bacteria, which agrees with previous reports [5]. This resistance could be ascribed to the structure of the cellular walls of Gram-negative bacteria, due to the presence of lipoproteins and lipopolysaccharides that form a barrier to restrict the entry of hydrophobic compounds [6].

Table 2

Mean microbial population (Cfu/ml) of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* growth treated with different concentrations of *Monodora myristica* and *Tetrapleura tetraptera* spices

Spices	Storage period	<i>Escherichia Coli</i>		<i>Staphylococcus Aureus</i>	
		Concentration (µg/ml)			
		25	50	25	50
<i>Mondora myristica</i> essential oil	Day 1	2*10 ^{7K} ±0	4 * 10 ^{7I} ±0	7 * 10 ^{7C} ±0	6.45 * 10 ^{7E} ±707
	Day 3	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0
	Day 5	0 ^L ±0	0 ^L ±0	6.51*10 ^{7E} ±212	4 * 10 ^{7I} ±0
<i>Mondora myristica</i> oleoresin	Day 1	5 * 10 ^{7G} ±0	3 * 10 ^{7J} ±0	7.05 * 10 ^{7C} ±707	7 * 10 ^{7C} ±0
	Day 3	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0
	Day 5	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0
<i>Tetrapleura tetraptera</i> essential oil	Day 1	6.65*10 ^{7D} ±212	4.90 * 10 ^{7H} ±134	9.05 * 10 ^{7A} ±707	7.01 * 10 ^{7C} ±141
	Day 3	2.15 * 10 ^{5L} ±212	1.53 * 10 ^{5L} ±354	2.5 * 10 ^{5L} ±0	2.03 * 10 ^{5L} ±353
	Day 5	7.05 * 10 ^{5L} ±707	7.05 * 10 ^{5L} ±707	6.10 * 10 ^{5L} ±141	6.10 * 10 ^{5L} ±141
<i>Tetrapleura tetraptera</i> oleoresin	Day 1	4 * 10 ^{7I} ±0	2 * 10 ^{7K} ±0	6 * 10 ^{7F} ±0	8 * 10 ^{7B} ±0
	Day 3	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0	0 ^L ±0
	Day 5	0 ^L ±0	1.5 * 10 ^{4L} ±7071	0 ^L ±0	0 ^L ±0
LSD		2.02			

Means with the same superscript are not significantly different

Conclusion: It has been noted that naturally occurring plants play a major role in controlling spoilage and pathogenic microbial growth in foods. Evidently, the studied spice plants are not without some natural antimicrobial capacity and would contribute appreciably to the reduction of microbial loads when added to foods.

REFERENCES

1. Rasooli I. Food preservation—A bio preservative approach // Food. – 2007. – No. 1(2). – P. 111-136.
2. Jayathilakan K., Sharma G. K., Radhakrishna K. & Bawa A. S. Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavor in different species of meat // Food Chemistry. 2007. – No. 105. – P. 908-916.
3. Jarubol, A. Volatile constituents and Biology activities of *G. Jasminodes* // Journal of Health Science. – 2009. – No. 23 (3). – P. 141-145.
4. David O.M. Ojo O.O. Olumekun V.O. & Famurewa O. Antimicrobial Activities of Essential Oils from *Hura crepitans* (L.), *Monodora myristica* (Gaertn Dunal) and *Xylopia aethiopica* (Dunal A. Rich) Seeds // British Journal of Applied Science & Technology. – 2014. – No. 4(23). – P. 3332-3341.
5. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review // International Journal of Food Microbiology. – 2004. – No. 94. – P. 223–253.
6. Cox S.D., & Markham J.L. Susceptibility and intrinsic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* to selected plant volatile compounds // Journal of Applied. Microbiology. – 2007. – No. 103. – P. 930–936.

**ВЛИЯНИЕ ВОДНО-СПИРТОВОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ТРАВЫ *EUPATORIUM CANNABINUM* L. НА
ЭМОЦИОНАЛЬНУЮ РЕАКЦИЮ МЫШЕЙ**

И.М. Баркин

Научный руководитель: доцент, к.ф.н. Ю.С. Федорова
Кемеровский государственный медицинский университет,
Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова 22 «А», 650029
E-mail: i.m.barkin@gmail.com

**INFLUENCE OF WATER-SPITER EXTRACTION OF *EUPATORIUM CANNABINUM* L. HERB ON
THE EMOTIONAL REACTION OF MICE**

I.M. Barkin

Scientific Supervisor: assistant professor, PhD in Pharmaceutical sciences Yu.S. Fedorova
Kemerovo State Medical University, Russia, Kemerovo, Voroshilova str., 22 «A», 650029
E-mail: i.m.barkin@gmail.com

Abstract. *In this study, we evaluated the indicators of the emotional response of male mice of the CD-1 line while taking water-alcohol extracts from the herb Eupatorium cannabinum L. before and after the Open Field test. As a result, a dose-dependent increase in the emotional response of animals was revealed, which suggests the presence of psychotropic activity in this plant.*

Введение. В настоящее время ассортимент лекарственных препаратов и биологически активных добавок различного действия пополняется препаратами природного происхождения, что объясняется открытием новых фармакологических свойств лекарственных растений [1]. Лекарственные препараты, обладающие психотропным действием представлены преимущественно препаратами синтетического происхождения, в то время как препаратам, имеющим растительную основу, при равной эффективности с синтетическими препаратами характерно более мягкое терапевтическое действие и менее выраженные побочные эффекты. Одним из таких растений, представляющих интерес, является *Eupatorium cannabinum* L. (посконник конолевидный, сем. *Asteraceae*), у которого выявлены противовоспалительное и возможное психотропное действие, что делает исследование данного растения весьма актуальным [2, 4, 5]. Фармакологические свойства данного растения обусловлены наличием в надземной части растений биологически активных веществ – флавоноидов, кумаринов, алкалоидов, дубильных веществ и др. [3].

Целью настоящего исследования являлось изучение психотропной активности на модели оценки влияния водно-спиртового извлечения травы *Eupatorium cannabinum* L. на эмоциональную реакцию мышей в условиях острого стресса.

Экспериментальная часть. Объектом исследования было выбрано высушенное 5%-ное водно-спиртовое извлечение травы *Eupatorium cannabinum* L. в следующих дозах: 25 мг/кг, 100 мг/кг, 500 мг/кг, 1000 мг/кг массы тела животного. Исследуемые образцы в течение 3-х дней вводили внутривенно мышам-самцам линии CD-1. Влияние на эмоциональную реакцию оценивали по методу J. Brady и W. Nauta [6]. Эмоциональную реакцию регистрировали до изучения ориентировочно-исследовательского поведения в тесте «открытое поле» (ОП) и после него.

Результаты. Методика изучения ориентировочно-исследовательского поведения в тесте ОП считается типичным проявлением острого стресса у животных, что обусловлено адаптацией к новым условиям (стресс новизны). Известно, что стресс новизны приводит к генерализации возбуждения и тревожности, поэтому эмоциональная реакция может усиливаться. Достоверных отклонений в группе интактного контроля после проведения теста ОП по сравнению с результатами этой же группы до его проведения зарегистрировано не было, но при этом наблюдалось увеличение регистрируемых показателей (табл. 1).

Таблица 1

Влияние различных доз экстракта травы *Eupatorium cannabinum* L. на эмоциональную реакцию мышцей-самцов линии CD-1 до и после теста «Открытое поле»

Группа	Захват/ клетка	Захват/ поверхность	Приближение	Толчок	Дефекация	Вокализация	Тонус (напряжение)
Интактный контроль	до теста ОП						
	1,13±0,2	1,2±0,16	0,4±0,11	0,8±0,15	0,25±0,1	0,5±0,12	0,7±0,1
	после теста ОП						
25 мг/кг	до теста ОП						
	1,22±0,15	1,0±0,24	0,89±0,11*	0,67±0,24	0,11±0,11	0,33±0,17	1,11±0,26
	после теста ОП						
100 мг/кг	до теста ОП						
	1,33±0,24	1,11±0,2	0,67±0,17	1,0±0,17	0,0±0,0*	0,22±0,15	1,11±0,31
	после теста ОП						
500 мг/кг	до теста ОП						
	1,3±0,29	0,9±0,2	0,8±0,11*	0,8±0,26х	0,22±0,15	0,22±0,15	1,23±0,22*
	после теста ОП						
1000 мг/кг	до теста ОП						
	1,44±0,18	1,11±0,2	1,0±0,0*х	0,22±0,15*	0,0±0,0*	0,22±0,15	1,56±0,18*х
	после теста ОП						
	1,9±0,11*х+	1,44±0,18	1,0±0,0*х	0,78±0,22+	0,22±0,15	0,44±0,18	1,56±0,18*х

* - отличие с контроль ДО, х – отличие с контроль ПОСЛЕ, + - отличие с соответствующей дозой ДО

После введения водно-спиртового извлечения травы *Eupatorium cannabinum* L. в дозе 25 мг/кг до проведения теста ОП отмечено достоверное повышение показателя реакции на приближение пинцета. После его проведения достоверное отличие от группы контроля в показателях реакции на захват в клетке и приближение пинцета. В то же время было отмечено снижение показателя вокализации. В группе животных получавших водно-спиртовое извлечение травы *Eupatorium cannabinum* L. в дозе 100 мг/кг до проведения теста ОП достоверных отличий от группы контроля не зарегистрировано. После проведения теста отмечено достоверное увеличение показателя реакции на приближение пинцета, а также увеличение показателя тонуса (напряжения) по сравнению с контролем. При регистрации показателей

после введения группе животных дозы 500 мг/кг и 1000 мг/кг до проведения теста ОП и после его проведения отмечено достоверное увеличение показателей реакции на захват животного из клетки, реакции на приближение пинцета и общего тонуса (напряжения) по сравнению с группой контроля.

Суммарная эмоциональная реакция представлена на рисунке 1.

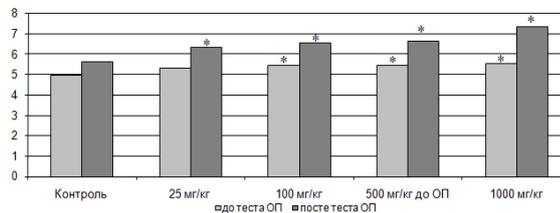


Рис. 1. Суммарная эмоциональная реакция

Оценка суммы показателей данного теста выявила дозозависимое увеличение эмоциональной реакции животных на фоне приема водно-спиртового извлечения из травы *Eupatorium cannabinum* L., как до, так и после проведения теста ОП.

Заключение. Таким образом, результаты исследования влияния водно-спиртового извлечения травы *Eupatorium cannabinum* L. на эмоциональную реакцию мышей-самцов линии CD-1 до и после теста «Открытое поле», позволяют предположить наличие психотропной активности у данного растения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кароматов И.Д. Отечественные лекарственные травы с антидепрессивными свойствами - обзор литературы // Биология и интегративная медицина. – 2018. - № 1. – С. 32-65.
2. Мехтиева Н.П.К., Серкерев С.В.О., Бахшалиева К.Ф.Г. Компонентный состав и антифунгальная активность экстракционного масла *Eupatorium cannabinum* L. флоры Азербайджана // Химия растительного сырья. - 2010. - № 2. - С. 139-142.
3. Федорова Ю.С., Баркин И.М. Исследование водно-спиртового извлечения травы *Eupatorium cannabinum* L. методом газожидкостной хроматографии с масс-селективной детекцией // Вестник науки и образования. - 2019. - № 7-1 (61). - С. 100-103.
4. Федорова Ю.С., Береговых Г.В., Баркин И.М., Суслов Н.И. Исследование противовоспалительной активности некоторых растительных экстрактов // Национальное здоровье. - 2019. - № 4. - С. 53-57.
5. Шилина Т.С. Получение лекарственных препаратов на основе травы посконника коноплевидного // В сборнике: Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 259-262.
6. Brady, J.V., Nauta W.J.H. Subcortical mechanisms in emotional behavior: affective changes following septal forebrain lesions in the albino rat // Journal of comparative and physiological psychology. – 1953. – Vol. 46, № 5. – P. 339–346.

ФАРМАКОКИНЕТИКА СЛОЖНОЭФИРНОГО ПРОИЗВОДНОГО ИНДОМЕТАЦИНА

А.В. Быкова, В.В. Быков

Научный руководитель: профессор, д.м.н., заслуженный работник ВШ РФ А.И. Венгеровский

Сибирский государственный медицинский университет,

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

E-mail: bykovaarina90@gmail.com

PHARMACOKINETICS OF AN ESTER DERIVATIVE OF INDOMETHACIN

A.V. Bykova, V.V. Bykov

Scientific Supervisor: Prof., Dr. A.I. Vengerovskii

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, ul. Moskovskii trakt, 2, 634050

E-mail: bykovaarina90@gmail.com

Abstract. Assess the linearity of pharmacokinetics of an ester of indomethacin and menthol (IML) after single administration to rats. It was demonstrated that increasing the administered dose of IML leads to dose-corresponding increase in C_{max} and AUC both for IML and the active metabolite indomethacin. The results of the study show the linearity of pharmacokinetics of IML and indomethacin in rat blood plasma in 12,5-50 mg/kg.

Введение. Воспаление и боль – актуальная проблема современной медицины. На начало прошлого десятилетия в РФ насчитывали 15 млн жителей с заболеваниями опорно-двигательной системы [1]. Для купирования болевого синдрома и лечения воспалительных заболеваний применяют нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Многие из них обладают серьезными побочными эффектами: вызывают поражение органов желудочно-кишечного тракта, повышают артериальное давление и повреждают почки. Перспективно создание сложноэфирного производного индометацина, сохраняющего высокую противовоспалительную активность с меньшим повреждающим действием на желудочно-кишечный тракт и сердечно-сосудистую систему. На этапе доклинических исследований для каждого лекарственного средства должны быть выполнены фармакокинетические исследования [2, 3].

Цель данной работы – изучить линейность фармакокинетики сложноэфирного производного индометацина в экспериментах на крысах при однократном введении внутрь.

Экспериментальная часть. Исследование проводили на 120 белых крысах самцах стока *Sprague Dawley* с массой тела 250 ± 25 г. Животных содержали в пластиковых клетках (по 6 особей) при температуре 18–26 °С, относительной влажности воздуха 45–65%, воздухообмене 10–11 об/ч и регулируемом световом режиме (12:12 ч). Исследование одобрено локальным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета № 6178 от 22.10.2018.

ИМЛ вводили крысам внутрь натошак в форме раствора в льняном масле в дозах 12,5; 25 и 50 мг/кг однократно, кровь забирали до введения и через 30, 60, 120, 240, 480, 960, 1440 и 1920 мин после введения. Временные точки были выбраны на основании предыдущих пилотных исследований. Кровь стабилизировали гепарином, плазму замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -70 °С.

Концентрацию ИМЛ и индометацина в плазме определяли методом ВЭЖХ-УФ (хроматограф «Милихром-02», Россия) с использованием валидированной методики [4]. В рамках исследования были рассчитаны следующие фармакокинетические параметры:

C_{\max} – максимальная концентрация ИМЛ и индометацина в плазме;

T_{\max} – время до достижения максимальной концентрации веществ в плазме;

AUC_{0-t} – площадь под кривой «концентрация ИМЛ или индометацина – время» в интервале от 0 до момента t отбора последнего образца крови, вычисленная линейным методом трапеций (формула 1):

$$AUC_{0-t} = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{t_{i+1} - t_i}{2} (C_i + C_{i+1}); \quad (1)$$

$AUC_{0-\infty}$ – площадь под кривой «концентрация ИМЛ или индометацина – время» в интервале от 0 до ∞ (формула 2):

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + \frac{C_t}{k_{el}}; \quad (2)$$

где C_t – последняя измеренная концентрация веществ;

k_{el} – константа скорости первого порядка, связанная с терминальной частью кривой. Вычислялась путем линейной регрессии времени в зависимости от логарифма концентрации. Данный параметр определяли с помощью анализа регрессии наименьших линейных квадратов с использованием не менее трех последних значений концентрации плазмы, не равных нулю;

MRT – среднее время удержания ИМЛ и индометацина в плазме (формула 3):

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC_{0-t}}; \quad (3)$$

AUMC – площадь под кривой момента (формула 4):

$$AUMC = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{t_{i+1} - t_i}{2} (C_i t_i + C_{i+1} t_{i+1}) + \frac{C_{last} t_{last}}{k_{el}} + \frac{C_{last} t_{last}^2}{k_{el}^2}; \quad (4)$$

$T_{1/2}$ – период полуэлиминации ИМЛ и индометацина (формула 5):

$$T_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_{el}}. \quad (5)$$

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 8.0. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Концентрация ИМЛ достигает максимума (T_{\max}) через 7,2–8,8 ч после однократного введения внутрь и определяется в крови (MRT) в течение 8–10 ч в диапазоне доз 12,5–50 мг/кг. Введение ИМЛ в диапазоне доз 12,5–50 мг/кг приводит к сопоставимому с дозой увеличению системной экспозиции AUC (нг × ч/мл): 9055 ± 2346 для дозы 12,5 мг/кг, 21065 ± 6396 для дозы 25 мг/кг, 36519 ± 9505 для дозы 50 мг/кг. Значения максимальной концентрации (C_{\max}) (нг/мл): 961 ± 260 для дозы 12,5 мг/кг, 1985 ± 889 для дозы 25 мг/кг, 3841 ± 1039 для дозы 50 мг/кг. Площадь ИМЛ под кривой момента составляет (ч²×нг/мл): 85300 ± 38897 для дозы 12,5 мг/кг, 391708 ± 47517 для дозы 25 мг/кг, 712626 ± 85422 для дозы 50 мг/кг. ИМЛ во всех исследуемых дозах постепенно выводится из организма, на что указывает невысокая константа элиминация (k_{el} в диапазоне 0,13 – 0,19 ч⁻¹) и высокий показатель времени полувыведения ($T_{1/2}$ для составляет 3,86 – 6,28 ч). Активный метаболит ИМЛ – индометацин достигает максимума концентрации (T_{\max}) через 12,8–16 ч после введения и определяется в крови (MRT) в течении 30–72 ч в диапазоне доз 12,5–50 мг/кг. Введение ИМЛ в диапазоне доз 12,5–50 мг/кг приводит к сопоставимому с дозой увеличению системной экспозиции AUC (нг × ч/мл) индометацина: 34149 ± 8644 для дозы 12,5 мг/кг, 61196 ± 11726 для дозы 25 мг/кг, 205884 ± 47920 для дозы 50 мг/кг. Значения

максимальной концентрации (C_{\max}) индометацина (нг/мл): 1615 ± 503 для дозы 12,5 мг/кг, 2961 ± 237 для дозы 25 мг/кг, 8772 ± 1925 для дозы 50 мг/кг. Площадь индометацина под кривой момента составляет ($\text{ч}^2 \times \text{нг/мл}$): 1038815 ± 60139 для дозы 12,5 мг/кг, 4553228 ± 1485748 для дозы 25 мг/кг, 5797573 ± 1288270 для дозы 50 мг/кг. Индометацин во всех дозах медленно выводится из организма: значение константы элиминации ниже, чем у ИМЛ ($0,07 - 0,10 \text{ ч}^{-1}$) и более высокий показатель времени полувыведения ($7,27 - 10,69 \text{ ч}$). Увеличение дозы ИМЛ приводит к сопоставимому росту показателей C_{\max} и АUC как у ИМЛ, так и у его активного метаболита – индометацина (табл. 1).

Таблица 1

Фармакокинетические параметры ИМЛ и индометацина при однократном введении внутрь ИМЛ крысам в дозе 12,5; 25 и 50 мг/кг

Определяемое вещество	Фармакокинетический параметр	Доза ИМЛ, мг/кг		
		12,5	25	50
ИМЛ	C_{\max} , нг/мл *	961 ± 260	1985 ± 889	3841 ± 1039
	AUC_{0-t} , нг \times ч/мл *	9185 ± 2052	20822 ± 6978	36074 ± 9714
	$AUC_{0-\infty}$, нг \times ч/мл *	9055 ± 2346	21065 ± 6396	36519 ± 9505
Индометацин	C_{\max} , нг/мл **	1615 ± 503	2961 ± 237	8772 ± 1925
	AUC_{0-t} , нг \times ч/мл **	32641 ± 8199	64365 ± 19999	202174 ± 48368
	$AUC_{0-\infty}$, нг \times ч/мл **	34149 ± 8644	61196 ± 11726	205884 ± 47920

* – значимые отличия показателей ИМЛ при введении ИМЛ в различных дозах ($p < 0,05$).

** – значимые отличия показателей индометацина при введении ИМЛ в дозах 12,5 и 50 мг/кг ($p < 0,05$).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о линейности фармакокинетики ИМЛ и индометацина в плазме крыс в диапазоне доз 12,5–50 мг/кг, что указывает на прогнозируемость системной экспозиции препарата при увеличении дозы. Ввиду высокой токсичности индометацина это крайне важно: с одной стороны, гидролиз сложноэфирной связи ИМЛ неспецифическими эстеразами ведет к порционному высвобождению индометацина и предотвращает появление его токсичных пиковых концентраций в крови, с другой – прогнозируемость экспозиции ИМЛ позволит корректировать дозу препарата с наименьшими рисками.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балабанова Р.М., Эрдес Ш.Ф. Динамика распространенности ревматических заболеваний, входящих в XIII класс МКБ-10, в популяции взрослого населения Российской Федерации за 2000–2010 гг. // Науч-практич. ревматол. – 2012. – Т. 3, № 52. – С. 10–12.
2. Российская Федерация. Законы. Об обращении лекарственных средств [Текст] : федер. закон : [принят Гос. Думой 24 марта 2010 г. : одобр. Советом Федерации 31 марта 2010 г.]. - [1-е изд.]. - М.: Кодекс, [2010]. – 101 с.; 21 см. - (Актуальный закон). - ISBN 978-5-392-01616-7.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 1607 с.
4. ICH Topic Q 2 (R1). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Retrieved June 19, 2018 from <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>

**ОЦЕНКА РОЛИ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ, АЛЬДОСТЕРОНА И ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ
В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ ХРОНИЧЕСКОГО ХОЛОДОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Н.С. Воронков, С.Ю. Цибульников

Научный руководитель: профессор, д.м.н. Л.Н. Маслов

Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, НИИ кардиологии,

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

E-mail: niks.voronkov@gmail.com

**EVALUATION OF THE ROLE OF GLUCOCORTICOIDS, ALDOSTERONE AND THYROID
HORMONES IN THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF CHRONIC COLD EXPOSURE**

N.S. Voronkov, S.Y. Tsibul'nikov

Scientific Supervisor: Prof., PhD, L.N. Maslov

Tomsk national research medical center of the Russian academy of sciences, cardiology research institute,

Russia, Tomsk, Kooperativnii str., 5, 634009

E-mail: niks.voronkov@gmail.com

Abstract. *The phenomenon of cross-resistance lies in the fact that after stress exposure there is resistance not only to the factor that caused this condition, but also to other irritants that are excessive in strength. It is shown that after the body adapts to various extreme influences, cross-resistance to the pathogenic effect of ischemia and myocardial reperfusion appears. However, it was not known whether the cardioprotective effect has continuous adaptation to cold. The study was performed on male Wistar rats, which were subjected to continuous cold exposure (+ 4°C, 4 weeks). A day after the end of the exposure, the rats underwent coronary occlusion (45 min) and reperfusion (120 min) of the heart. After that, myocardial sections were made and stained. The planimetric method was used to evaluate the ratio of the area of the myocardial necrosis zone to the risk area. Changes in organ mass, and measurement of cortisol and corticosterone levels were evaluated. It was found that continuous exposure to cold causes a twofold increase in the mass of brown fat, which is an indicator of adaptation to cold. At the same time, the levels of cortisol and corticosterone did not increase, there was no involution of the thymus and changes in the mass of the spleen. This suggests that such an adaptation is not chronic stress. In rats subjected to continuous cold exposure, the necrosis zone / risk area index decreased by 30% compared with the control. Thus, continuous adaptation to cold has an infarct-limiting effect.*

Введение. Феномен перекрёстной резистентности заключается в том, что после стрессорного воздействия возникает устойчивость не только к фактору, вызвавшему это состояние, но и к другим чрезмерным по силе раздражителям. Показано, что после адаптации организма к различным экстремальным воздействиям появляется перекрёстная резистентность к патогенному действию ишемии и реперфузии миокарда [1]. Однако не было известно, оказывает ли кардиопротекторный эффект непрерывная адаптация к холоду и какую роль в ней играют глюкокортикоиды, альдостерон и тиреоидные гормоны.

Цель работы – оценить возможную роль роли глюкокортикоидов, альдостерона, тиреоидных гормонов в кардиопротекторном эффекте длительного холодого воздействия.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 53 крысах-самцах линии Wistar массой 200 - 220 г. Группа из 12 крыс круглосуточно содержались в холодильной камере при +4°C в течение 4-х недель. В группу контроля включено 15 животных, содержащихся в стандартных условиях вивария. Через 24 часа после окончания холодового воздействия крысам проводили коронароокклюзию (45 мин) и реперфузию (120 мин) по методу Schultz и соавт.

Выявление зоны некроза (ЗН) и области риска (ОР) проводили по методу J. Neckar и соавт. Областью риска принято называть миокард, подвергшийся ишемии-реперфузии. После реперфузии изготавливали срезы миокарда левого желудочка. Зона некроза выделялась из области риска путем окрашивания 1% раствором 2,3,5-трифенилтетразолияхлорида (30 минут, 37°C), являющегося индикатором жизнеспособных клеток и тканей. Размер ЗН и ОР определяли компьютеризированным планиметрическим методом и выражали в процентах как соотношение ЗН/ОР (%).

В отдельную серию экспериментов было включено 12 адаптированных и 14 контрольных крыс, у которых определяли уровень гормонов, массу надпочечников, селезенки, тимуса. Одним из показателей адаптации к холоду является относительное увеличение массы бурого жира [2], поэтому у животных взвешивали межлопаточный бурый жир. Измерение уровня кортикостерона проводили иммуноферментным методом, а измерение уровня кортизола, альдостерона и тиреоидных гормонов радиоиммунным методом.

Результаты. У крыс, подвергнутых непрерывному холодовому воздействию, индекс ЗН/ОР уменьшился на 39% относительно контрольных крыс, тогда как у крыс, подвергнутых прерывистому холодовому воздействию, индекс ЗН/ОР не изменялся относительно животных контрольной группы. Это свидетельствует об инфаркт-лимитирующем воздействии хронической холодовой адаптации.

Также установлено, что непрерывное воздействие холода (24 ч, +4°C, 4 недели) вызывает увеличение массы межлопаточного бурого жира в два раза по сравнению с интактными животными, также мы наблюдали увеличение массы сердца, а именно левого желудочка, на 40 % (Таблица 1). Подобные изменения являются типичным проявлением адаптации к холоду [3].

Таблица 1

Морфологические показатели стресс-реакции у крыс

	Масса крысы (г)	Тимус (мг)	Надпочечники (мг)	Селезенка (мг)	Левый желудочек сердца (мг)	Правый желудочек сердца (мг)	Бурый жир (мг)
Контроль n = 15	282.6 ± 9.3	240.5 ± 13.2	35.6 ± 2,1	1059.5 ± 96.1	808.6 ± 36.2	148.5 ± 11.4	300.4 ± 38.2
Холод n = 12	264.8 ± 3.56	217.0 ± 12.9	49.7* ± 2	933.8 ± 45.2	957.8* ± 41.7	166.3 ± 14.7	764.6* ± 30.5

Примечания: n – количество животных в группе; * - статистически значимые различия по сравнению с группой контроля (при $p < 0,05$).

Масса надпочечников повышалась при непрерывном воздействии холода (Таблица 1) и, по всей видимости, это изменение направлено на повышение резервных возможностей организма. Концентрация глюкокортикоидов у адаптированных крыс не отличалась от значений, характерных для интактных особей. Следовательно, использованное нами холодовое воздействие не является хроническим стрессом.

Уровень гормона Т₃ в сыворотке крови увеличивался на 50% по сравнению с интактными животными. Уровень альдостерона в сыворотке крови двукратно снижался (Таблица 2).

Таблица 2

Концентрация гормонов в сыворотке крови крыс

	Кортикостерон, нМоль/л	Альдостерон нМоль/л	Кортизол, нМоль/л	Т ₃ нМоль/л	Т ₄ нМоль/л
Контроль n = 15	2568.5 ± 93.3	310,1 ± 67,1	58.3 ± 12.2	1,04 ± 0,17	45,6 ± 4,6
Холод n = 12	2587.3 ± 91.4	167,3* ± 31,8	47.1 ± 6.1	1,55* ± 0,1	49,9 ± 2,4

Примечания: n – количество животных в группе; * - статистически значимые различия по сравнению с группой контроля (при p<0,05).

Уровень альдостерона в сыворотке крови снижался. Предположительно, подобное уменьшение секреции альдостерона направлено на увеличение диуреза и экскрецию Na⁺.

Вместе с тем, мы обнаружили увеличение Т₃ при непрерывной холодовой экспозиции. Вероятно, это направлено на повышение теплопродукции и повышение потребления кислорода, что жизненно необходимо для выживания в условиях холода. Кроме того, высокий уровень тиреоидных гормонов может способствовать повышению толерантности сердца к действию ишемии-реперфузии. Действительно, показано, что введение мышам агониста тиреоидных рецепторов DITPA способствует повышению устойчивости сердца к коронароокклюзии и реперфузии [4].

Закключение. Таким образом, нами было установлено, что непрерывное воздействие холода (+4°C, 4 недели) вызывает адаптацию к холоду и не является хроническим стрессом. Трийодтиронин принимает участие в механизмах формирования инфаркт-лимитирующего эффекта холодовой адаптации.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФ 16-15-10001.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Meerson F.Z. et al. Animal resistance to sublethal hypoxia may be raised more by adaptation to stress than by adaptation to hypoxia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1993. – Vol. 116., № 6. – P. 1467–1471.
2. Lim S., Honek J., Xue Y. et al. Cold-induced activation of brown adipose tissue and adipose angiogenesis in mice // Nature Protocols. – 2012. – Vol. 7., № 3. – P. 606–615.
3. Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В. Влияние долговременной адаптации к холоду на состояние сердечно-сосудистой системы // Российский физиологический журнал. – 2015. – Т. 101., № 5. – С. 525–537.
4. Abohashem-Aly A.A., Meng X., Li J., Sadaria M.R., et al. DITPA, a thyroid hormone analog, reduces infarct size and attenuates the inflammatory response following myocardial ischemia // Journal of Surgical Research. – 2011. – Vol. 171., № 2. – P. 379–385.

АНАЛИЗ АБЕРРАЦИЙ ЧИСЛА КОПИЙ ДНК ГЕНА *PARP1* ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Д.С. Долгашева^{1,2}, М.К. Ибрагимова¹, М.М. Цыганов¹

Научный руководитель: к.б.н. М.М. Цыганов

¹НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

E-mail: normikus.18.97@gmail.com

ANALYSIS OF DNA COPY NUMBER ABERRATIONS *PARP1* GENE IN BREAST CANCER

D.S. Dolgasheva^{1,2}, M.K. Ibragimova¹, M.M. Tsyganov¹

Scientific Supervisor: Candidate of Biological Sciences M.M. Tsyganov

¹Tomsk Cancer Research Institute, Russia, Tomsk, Kooperativny Street, 5, 634050

²Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina av., 36, 634050

E-mail: normikus.18.97@gmail.com

Abstract. Poly (ADP-ribose) polymerase plays an important role in the repair of single-strand breaks (SSB) and double-strand breaks (DSB). As is known, *PARP1* gene activation is an alternative way of DNA repair in tumor cells. In this regard, violations in this gene may be associated with the effectiveness of treatment of breast cancer patients. In the present study, we consider the role of *PARP1* copy number aberration in breast cancer. The study included 114 patients with luminal breast cancer of stage IIA–IIIB, with a morphologically verified diagnosis. As a result of the study, the frequency of copy number aberration *PARP1* was estimated. In 50.9% of cases amplification of this gene is observed; deletion in 31.6% of cases; normal gene status was observed in 20 patients. The presence of amplification of the *PARP1* gene was found to be a good response to neoadjuvant chemotherapy. However, *PARP1* amplification is associated with a poor prognosis of the disease.

Введение. На сегодняшний день хорошо известна роль поли(АДФ-рибоза) полимераз (PARP) в стабилизации генома. Было установлено, что они принимают непосредственное участие в процессах репарации, рекомбинации, репликации ДНК и так далее. Самым известным и хорошо изученным представителем данного белкового семейства является PARP1. Многие исследования указывают на то, что продукт гена *PARP1* способен восстанавливать одно- и двунитевые разрывы ДНК при различных нарушениях. Причем при взаимодействии с участками, содержащими разрывы, его активность возрастает. Таким образом, было установлено, что чем больше повреждений содержит ДНК, тем выше активность PARP1 [1]. Было установлено, что повышенная экспрессия *PARP1* при различных злокачественных новообразованиях может приводить к снижению эффекта химиотерапии, что, в свою очередь, существенно влияет на выживаемость пациентов. Недавний мета-анализ также подтвердил связь экспрессии данного гена с очень низкими показателями общей ($p=0,02$) и безрецидивной выживаемости ($p=0,01$) [2]. Важно отметить, что активация гена *PARP1* является альтернативным путем репарации ДНК в опухолевых клетках, например, при дефиците гомологичной рекомбинации. В этой

связи нарушения в данном гене могут быть связаны с эффективностью лечения больных раком молочной железы (РМЖ) и раком яичника.

Целью данной работы явилось изучение aberrаций числа копий (CNA) гена *PARP1* в опухоли молочной железы, влияния копийности на эффект химиотерапевтического лечения и прогноз заболевания.

Материалы и методы. В исследование включены 114 больных люминальным-В раком молочной железы IIА–IIIВ стадии, с морфологически верифицированным диагнозом. ДНК выделяли из биопсийных образцов опухолевой ткани с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Целостность и чистоту ДНК оценивали при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA). Для оценки CNA проводили анализ на микроматрицах (ДНК-чипах) высокой плотности (Affymetrix CytoScan™ HD Array, USA). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA).

Результаты и обсуждение. В результате проведенного исследования была оценена частота CNA *PARP1*. В 50,9% случаев (58/114) наблюдается амплификация (Gain) данного гена; нормальная копийность гена (n) наблюдалось в 31,6% случаев (36/114); делеция (Loss) регистрировалась у 20 пациентов (17,5%). Далее, мы оценили связь исследуемых параметров с эффектом неoadъювантной химиотерапии (НХТ) (рис. 1). Оказалось, что существуют статистически достоверные различия в эффекте НХТ у пациентов с различными CNA гена *PARP1*. Установлено, что частота амплификаций в группе больных с объективным ответом статистически значимо выше по сравнению с группой пациентов со стабилизацией и прогрессированием (55,8%, 43/77 случаев против 40,5%, 15/37 случаев, $p=0,004$).

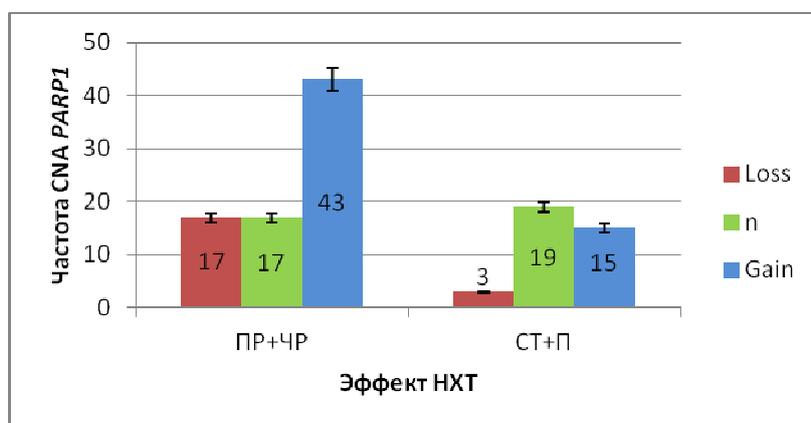


Рис. 1. Связь CNA гена *PARP1* в опухоли молочной железы с эффектом неoadъювантной химиотерапии.

Примечание: эффект НХТ: ПР – полная регрессия, ЧР – частичная регрессия, СТ – стабилизация, П – прогрессирование; Loss – делеция; Gain – амплификация; n – нормальная копийность гена

Далее с использованием метода Каплана-Майера были оценены показатели общей и безметастатической выживаемости больных РМЖ в зависимости от наличия хромосомных aberrаций исследуемого гена (Рис. 2). Несмотря на то, что наличие амплификации определяло хороший ответ на проводимую химиотерапию, показатели безметастатической выживаемости таких больных были значительно ниже, по сравнению с пациентами, у которых наблюдалась делеция или нормальное состояние гена (log-rank test $p=0,006$), (Рис. 2А).

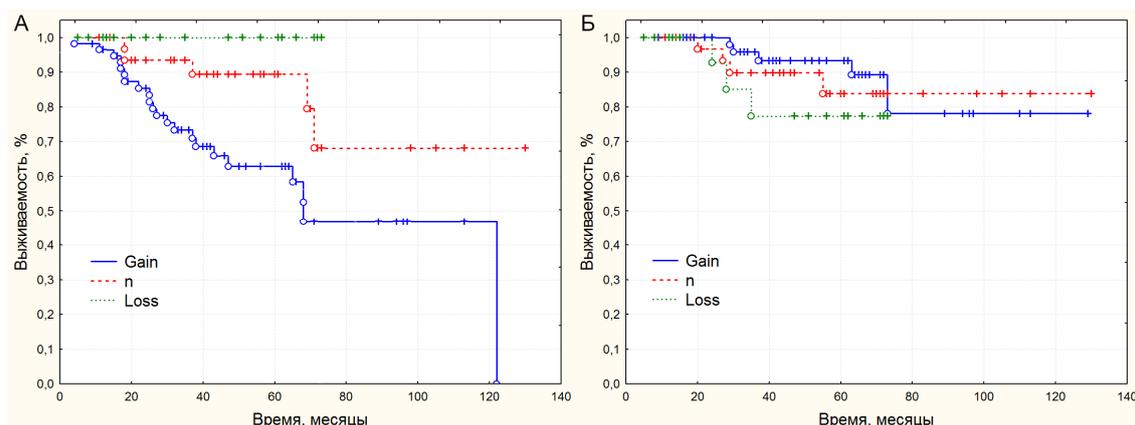


Рис. 2. Безметастатическая (А) и общая (Б) выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от CNA гена *PARP1*

Так у пациентов с делецией наблюдалась 100% безметастатическая выживаемость. Статистически значимых различий в показателях общей выживаемости у исследуемых пациентов установлено не было (log-rank test $p=0,273$) (Рис. 2Б). В настоящее время, исследования гена *PAPR1* в опухоли молочной железы немногочисленны, но полученные в них результаты согласуются с нашими. В частности, было показано, что высокий уровень экспрессии *PARP1* наблюдается приблизительно у 30–60% больных РМЖ. Кроме того, установлено, что избыточная экспрессия *PARP1* является независимым негативным прогностическим фактором как для безрецидивной (HR 10,05; 95% ДИ 5,42–10,66), так и для общей выживаемости (HR 1,82; 95% ДИ 1,32–2,52), ($p<0,001$), [3].

Заключение. Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что наличие амплификации гена *PARP1* сопряжено с хорошим ответом на неоадьювантную химиотерапию. При этом амплификация *PARP1* связана с плохим прогнозом заболевания. Важно отметить, что данный показатель в опухоли молочной железы регистрируется у более половины больных, что делает амплификацию *PARP1* хорошим прогностическим маркером. Однако данный вопрос требует дальнейшего исследования, в том числе и на других молекулярных подтипах рака молочной железы.

Работа поддержана грантом РФФ № 19-75-00027 «Исследование соматического статуса гена *BRCA1* в опухоли молочной железы для персонализированного назначения лечения».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ефремова А.С., Шрам С.И., Мясоедов Н.Ф. Доксорубин вызывает временную активацию процесса поли(АДФ-рибозил)ирования белков в клетках H9c2 // Доклады Академии наук. – 2015. – Т. 464., № 6. – С. 745–749.
2. Mazzotta A., Partipilo G., De Summa S., et al. Nuclear PARP1 expression and its prognostic significance in breast cancer patients // Tumor Biology. – 2016. – Vol. 37, № 5. – P. 6143-6153.
3. Rojo F., Garcia-Parra J., Zazo S., et al. Nuclear PARP-1 protein overexpression is associated with poor overall survival in early breast cancer // Annals of Oncology. – 2011. – Vol. 23, № 5. – P. 1156-1164.

**ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ PD-1 И PD-L1 НА ЛЕЙКОЦИТАХ МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ
ЛЕГКИХ ЛЬЮИС ПОД ВЛИЯНИЕМ ПОЛИСАХАРИДОВ TUSSILAGO FARFARA L.**

А.Р. Дягель, Е.А. Сафонова

Научный руководитель: к.м.н. Е.А. Сафонова

НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томского НИМЦ,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 3, 634028

Сибирский государственный медицинский университет,

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

E-mail: nastasiassmu@gmail.com

**PD-1 AND PD-L1 EXPRESSION ON LEUKOCYTES OF MICE WITH LEWIS LUNG CARCINOMA
UNDER INFLUENCE OF TUSSILAGO FARFARA L. POLYSACCHARIDES**

A.R. Diagel, E.A. Safonova

Scientific Supervisor: PhD E.A. Safonova

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Russia, Tomsk, Lenin str., 3, 634028

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moscow tract, 2, 634050

E-mail: nastasiassmu@gmail.com

Abstract. *Tumor cells can maintain their growth through immunosuppression and avoid immune response by controlling the PD-1/PD-L1 system. PD-L1 (CD274) expression is an inhibitory signal for T-lymphocytes. The experiment with C57BL/6 mice with Lewis lung carcinoma showed the possible reduction of CD279 and CD274 expression on lymphocytes in the peripheral blood and tumor tissue under the influence of Tussilago farfara L. polysaccharides. This process may underlie the antitumor and antimetastatic mechanism of polysaccharides.*

Введение. Иммуноterapia опухолей является одним из новых и перспективных подходов для борьбы с онкологическими заболеваниями. Разработка препаратов, блокирующих контрольные точки иммунитета (PD-1, PD-L1), имеет огромный потенциал для онкологической терапии. Рецептор PD-1 экспрессируется на поверхности активированных Т-лимфоцитов [1]. Его взаимодействие с лигандом PD-L1 на опухолевых клетках и клетках опухолевого микроокружения приводит к увеличению иммуносупрессивного эффекта и способствует подавлению противоопухолевого иммунного ответа [2, 3]. Инактивация PD-1 и PD-L1 позволяет увеличить пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов и избежать уклонения опухолевых клонов от распознавания иммунной системой [4].

Одним из методов иммунотерапии опухолей является разработка терапевтических анти-PD-1 и анти-PD-L1 моноклональных антител [4]. Альтернативными препаратами в этом плане могут стать средства растительного происхождения, в частности полисахариды. Они нетоксичны, легко усваиваются организмом, обладают широким спектром фармакологических эффектов и способны модулировать иммунную систему [5]. Таким образом, полисахариды могут быть перспективными для использования в онкологической практике.

Целью исследования являлось изучить характер изменения экспрессии молекул PD-L1 (CD274) и PD-1 (CD279) на лейкоцитах в периферической крови и опухолевой ткани мышей с карциномой легких Льюис под воздействием полисахаридов *Tussilago farfara L.*

Экспериментальная часть. Данный эксперимент выполнялся на мышах-самках линии C57BL/6, которым проводилась трансплантация карциномы легких Льюис (LLC). Перевивка LLC мышам опытной и контрольной групп осуществлялась внутримышечно гомогенатом опухолевой ткани в стерильном физиологическом растворе по 5×10^6 клеток в 0,1 мл. Начиная со второго дня после перевивки опухоли, животным опытной группы ежедневно внутривбрюшинно вводили полисахариды *Tussilago farfara L.* в дозе 20 мг/кг. Животные группы контроля получали только эквивалентный объем физиологического раствора. На 7 и 14 сутки с момента начала эксперимента, что соответствует более раннему и позднему этапу развития опухолевого процесса, проводилось выявление в опухолевой ткани и в периферической крови мышей клеток с фенотипом CD279+ и CD274+ среди лейкоцитов с маркером CD45. Анализ клеточных популяций осуществлялся на проточном цитофлюориметре CytoFLEX. Полученные данные анализировались с использованием программного обеспечения CytExpert 2.3.

Для изучения влияния полисахаридов на основные показатели опухолевого роста, было сформировано 3 группы: контрольная (животные с LLC), группа, получавшая полихимиотерапию (ПХТ) цисплатином 5 мг/кг и паклитакселом 15 мг/кг внутривбрюшинно с интервалом в 30 минут на 10, 12 и 14 сутки после трансплантации опухоли, и группа, наряду с ПХТ получавшая полисахариды *Tussilago farfara L.* ежедневно, внутривбрюшинно в дозе 20 мг/кг, начиная с 7 суток с момента перевивки LLC. Эффективность лечения оценивали по противоопухолевому и антиметастатическому действию препаратов, определяя на 17 сутки массу основного опухолевого узла, количество и площадь метастазов в легких, частоту метастазирования, процент торможения роста опухоли (ТРО), индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) и на 9, 11, 13, 15 сутки – объем опухоли.

Обработку результатов проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона-Манна-Уитни и углового преобразования Фишера. Различия считали достоверными при $P < 0,05$ [6].

Результаты. На раннем этапе развития карциномы легких Льюис экспрессия молекул CD279 на лейкоцитах в периферической крови мышей контрольной группы оказалась значимо больше, чем у животных интактной группы. Количество CD279+ клеток в периферической крови животных, получавших полисахариды, оказалось значимо меньше (в 1,4 раза) по сравнению с таковым у животных контрольной группы ($P < 0,05$). В ткани опухоли наблюдалось статистически значимое уменьшение ($P < 0,05$) числа клеток с фенотипом CD274+ (в 2,5 раза) и CD279+ (в 1,7 раза) у группы животных, получавшей полисахариды, относительно этих значений в группе контроля.

На 14 сутки после перевивки опухоли у животных контрольной группы число лейкоцитов с CD274 и CD279 молекулами в периферической крови было значимо больше, чем у интактной группы - в 17,8 и 5,9 раза соответственно ($P < 0,05$). Также у животных, получавших полисахариды *Tussilago farfara L.*, наблюдалось значимое снижение количества CD274+ и CD279+ клеток ($P < 0,05$) по сравнению с этими показателями у мышей группы контроля как в периферической крови (в 11,6 и 9,1 раза), так и в ткани опухоли (в 7,3 и 2,6 раза).

На 17 сутки после перевивки LLC у мышей, получавших совместно с ПХТ полисахариды, наблюдалось увеличение индекса ингибирования метастазирования (51,5 %) по сравнению с таковым у

животных, леченных только цитостатиками (31,5 %). Включение полисахаридов в схему химиотерапии приводило к снижению частоты метастазирования (80%) относительно этого показателя в группе ПХТ (100%). В то время, как значимой разницы в количестве метастазов между группами животных ПХТ и контролем выявлено не было, у мышей, леченных дополнительно полисахаридами, отмечалось статистически значимое уменьшение данного показателя по сравнению с этим значением в контроле ($P < 0,05$).

На 11 и 13 сутки исследования у животных, получавших совместно с ПХТ полисахариды отмечено достоверное снижение объема опухоли ($P < 0,01$), а на 11, 13 и 15 сутки после перевивки LLC в этой группе наблюдения отмечено увеличение ТРО относительно этих показателей у мышей, подвергавшихся только ПХТ.

Заключение. В результате проведенного исследования установлено, что в группе мышей, получавших полисахариды *Tussilago farfara L.*, наблюдалось значимое снижение содержания CD274+ и CD279+ клеток в периферической крови и ткани опухоли по сравнению с этими показателями в контроле. Включение полисахаридов в схему химиотерапии приводило к повышению противоопухолевого и антиметастатического эффектов цитостатического лечения. Таким образом, в основе механизма действия полисахаридов *Tussilago farfara L.* может лежать блокирование контрольных точек иммунного ответа, а именно PD-1/PD-L1 сигнального пути, что делает их перспективными для изучения в качестве иммунотерапевтического средства при лечении онкологических заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Quezada S.A, Peggs K.S. Exploiting CTLA-4, PD-1 and PD-L1 to reactivate the host immune response against cancer // *British Journal of Cancer*. – 2013. – V. 108, № 8. – P. 1560–1565.
2. Dong H., Strome S.E, Salomao D.R., et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion // *Nature Medicine*. – 2002. – V. 8, № 8. – P. 793–800.
3. Zeng J., Zhang X., Chen H., et al. Expression of programmed cell death-ligand 1 and its correlation with clinical outcomes in gliomas // *Oncotarget*. – 2016. – V. 7, № 8. – P. 8944–8955.
4. Ключагина Ю.И., Соколова З.А., Барышникова М.А. Роль рецептора PD1 и его лигандов PDL1 и PDL2 в иммунотерапии опухолей // *Онкопедиатрия*. – 2017. – Т. 4., № 1. – С. 49–53.
5. Сафонова Е.А. Полисахариды растений как корректоры цитостатической терапии экспериментальных опухолей: Автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук. – Томск, 2011. – 25 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.

**ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК IN VITRO С ПОМОЩЬЮ
ПЛАЗМЫ ГАЗОВОГО РАЗРЯДА**

А.А. Евтина^{1,3}, В.О. Нехорошев²

Научный руководитель: с.н.с., к.б.н. М.А. Булдаков³

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

²Институт сильноточной электроники СО РАН,

Россия, г. Томск, пр. Академический, 2/3, 634055

³НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН,

Россия, Томск, пер. Кооперативный 5, 634009

E-mail: anastasiya10152@gmail.com

**INHIBITION OF TUMOR CELL PROLIFERATION IN VITRO USING ATMOSPHERIC-PRESSURE
PLASMA JET**

A.A. Evtina^{1,3}, V.O. Nekhoroshev²

Scientific Supervisor: Ph.D. M.A. Buldakov³

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue 36, 634050

²Institute of High Current Electronics SB RAS, Russia, Tomsk, Academic Ave. 2/3, 634055

³Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russia, Tomsk, Kooperativny Str. 5, 634009

E-mail: anastasiya10152@gmail.com

Abstract. *In the present study, we performed some new ideas regarding the use of plasma in medicine. In particular, the dependence of antitumor effects on the parameters of atmospheric-pressure plasma jet. Currently, there is strong evidence that the effect of low-temperature plasma is effective in cancer therapy. In our study, it was shown that atmospheric-pressure plasma jet inhibits cell proliferation of human tumor cells by up to 75% after exposure relative to control. The effect of low temperature plasma depends on the discharge pulses frequency and time of exposure.*

Введение. В последнее время использование плазмы атмосферного давления как фактора, индуцирующего апоптоз в опухолевых клетках, становится все более актуальным. С одной стороны, это объясняется относительной простотой и доступностью генераторов плазмы атмосферного давления, а с другой – эффективностью её применения в биомедицинских целях, в частности, в терапии онкологических заболеваний.

На сегодняшний день в литературе описано противоопухолевое действие низкотемпературной плазмы и плазменных струй, продемонстрированное *in vitro* на многих линиях опухолевых клеток [1]. Было показано, что с помощью плазмы можно не только внести активные радикалы в среду, но и индуцировать генерацию активных форм кислорода в клетках, приводящих к их гибели [2, 3]. В экспериментах, проведенных *in vivo*, было зарегистрировано снижение роста подкожных опухолей у мышей, а также стимуляция иммунного ответа на опухолевую прогрессию [4]. Эти данные доказывают актуальность использования низкотемпературной плазмы в онкологической практике.

Исходя из вышеизложенного, целью данной работы являлось исследование действия плазмы разряда в потоке воздуха при атмосферном давлении на пролиферацию опухолевых клеток.

Материалы и методы. Для достижения вышеуказанной цели использовалась лабораторная установка, разработанная в Томском научном центре ИСЭ СО РАН, упрощенная функциональная схема которой приведена на рис. 1.

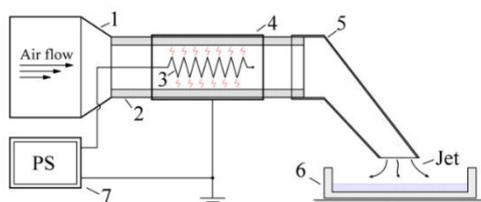


Рис. 1. Функциональная схема лабораторной установки для исследования воздействия на биологические объекты струи плазмы, полученной на основе разряда в потоке воздуха. 1 – компрессор, 2 – кварцевая трубка, 3 – потенциальный электрод, 4 – заземленный электрод, 5 – сопло (силикон), 6 – чашка Петри с обрабатываемой средой, 7 – высоковольтный источник питания

Компрессор 1 использован для обеспечения потока воздуха (расход воздуха до 50 мл/сек) проходящего через область плазмы разряда. Таким образом, долгоживущие активные частицы, образовавшиеся в плазме разряда, увлекаются потоком воздуха и подаются к обрабатываемому образцу 6 через сопло 7. Для генерации плазмы использовался электрический разряд, поддерживаемый в потоке воздуха при подаче на электрод 3 импульсного напряжения отрицательной полярности амплитудой до 15 кВ и длительностью около 1 мкс. Высоковольтный источник питания 7 позволял плавно регулировать частоту следования импульсов напряжения в диапазоне от 1.5 до 4.2 кГц.

В качестве клеточных линий использовали клетки рака шейки матки (HeLa) и клетки рака молочной железы (MCF-7). Клетки инкубировались при температуре 37°C в чашках Петри во влажной среде с 5% содержанием CO₂, затем подвергались воздействию струи плазмы. В эксперименте варьировали частоту следования импульсов напряжения, а также время воздействия: 120 и 240 с за сеанс. Через 1 и 5 суток проводилась оценка пролиферативной активности клеток с помощью МТТ-теста. Затем определялась оптическая плотность растворов при 620 нм с использованием микропланшетного считывателя Multiscan (Thermo Scientific, США).

Результаты. Проведенные эксперименты показали, что воздействие плазмой газового разряда приводит к ингибированию пролиферативной активности опухолевых клеток HeLa (рис.2). На первые сутки после воздействия торможение клеточного роста составляло 45-50% по сравнению с группой контроля. При этом эффект не зависел от частоты следования импульсов напряжения и времени воздействия. Максимальный эффект наблюдался при воздействии с частотой электрических разрядов 2 кГц в течение 120 с и на 5-е сутки составил 70%. Более длительное воздействие (240 с) не приводило к усилению эффекта, так же, как и увеличение частоты следования импульсов напряжения до 4 кГц также не приводило более выраженному торможению роста клеток.

Реакция опухолевых клеток молочной железы отличалась от реакции клеток рака шейки матки на воздействие плазмы газового разряда. Как и в случае с HeLa, отмечалось ингибирование пролиферативной активности клеток MCF-7, однако на первые сутки этот эффект достигал только 20-

25% по сравнению с группой контроля (рис.2). При этом эффект также не зависел от частоты следования импульсов напряжения и длительности воздействия. При использовании частоты 2 кГц эффект зависел от времени облучения. Воздействие в течение 120 с приводило к торможению клеточного роста на 35% по сравнению с контрольной группой, в то время как более длительное воздействие (240 с) ингибировало клеточную пролиферацию на 75%. В случае использования электрических разрядов с частотой 4 кГц торможение роста клеток рака молочной железы составляло 55-60% и не менялось с увеличением времени воздействия.

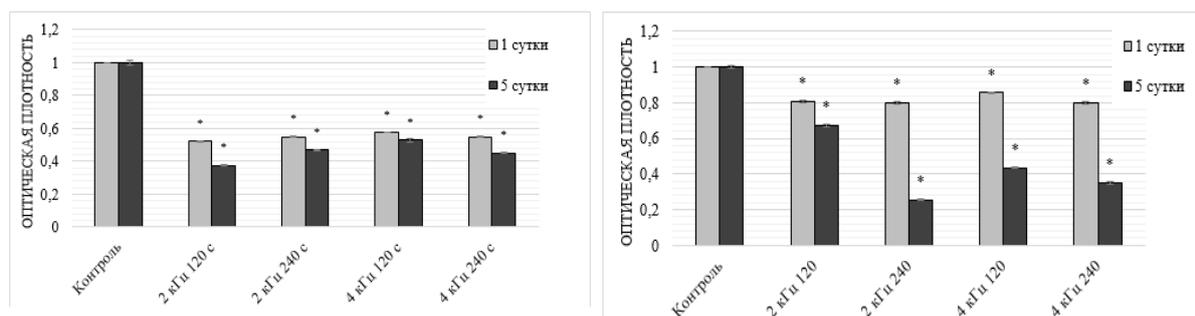


Рис. 2. Пролиферативная активность HeLa (слева) и MCF-7 (справа) через 1 и 5 суток после воздействия плазмы с частотами 2 и 4 кГц. Примечание: * – статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля

Такие результаты могут быть обусловлены наличием реакционно способных ионов, которые образуются во время прохождения воздуха через электрический разряд [1]. Такой комплекс реакционноспособных соединений может влиять на метаболизм биологических объектов, нарушая их окислительно-восстановительный баланс.

Заключение. Таким образом, было показано, что низкотемпературная плазма газового разряда в диапазоне частот следования импульсов напряжения 2-4 кГц способна ингибировать пролиферативную активность опухолевых клеток человека *in vitro*. Однако химия режимов разряда плазмы требует детального изучения, поскольку для реализации адаптивной плазменной системы необходимо разработать эффективную многопараметрическую систему обратной связи, основанную на клеточных реакциях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hirst, A.M., Frame F.M., Arya M., Maitland N.J., Connell D.O'. Low temperature plasmas as emerging cancer therapeutics: the state of play and thoughts for the future // *Tumor Biology*. – 2016. – Vol. 37, № 6. – P. 7021–7031.
2. Keidar, M., Yan D., Beilis I.I., Trink B., Sherman J.H. Plasmas for Treating Cancer: Opportunities for Adaptive and Self-Adaptive Approaches // *Trends in Biotechnology*. – 2018. – Vol. 36, № 6. – P. 586–593.
3. Keidar M. A Prospectus on Innovations in the Plasma Treatment of Cancer // *Physics of Plasmas*. – 2018. – № 25. – p. 1–24.
4. Miller V., Lin A., Fridman A. Why Target Immune Cells for Plasma Treatment of Cancer // *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. – 2016. – Vol. 36. – P. 259–268.

**ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КАПСУЛ И АНАЛИЗ
ЭКСПРЕССИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА КЛЕТКАМИ**

А.В. Захорольная, А.Н. Парфененкова, А.Р. Бухарев

Научный руководитель: к.н., Я.В. Тараканчикова

Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж.И. Алфёрова

Российской академии наук,

Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, 194021

E-mail: anzakhorolnaya@gmail.com**EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF POLYELECTROLYTE CAPSULES AND ANALYSIS
OF THE EXPRESSION OF GENETIC MATERIAL BY CELLS**

A.V. Zahorolnaya, A.N. Parfenenkova, A.R. Bukharev

Scientific Supervisor: PhD, Y.V. Tarakanchikova

St. Petersburg Academic University, Russia, Saint Petersburg, Khlopina str. 8, 194021

E-mail: anzakhorolnaya@gmail.com

Abstract. *Polyelectrolyte capsules (PE) have great potential for delivering genetic material to cells. The article considers the toxic effect of PE capsules on cells and the expression of the delivered gene.*

Введение. В последние годы все более актуальным становится вопрос эффективной доставки генетического материала. Существует большое количество способов доставки генетического материала в клетки. На сегодняшний день предложен целый ряд вирусных векторов для эффективной трансдукции генетического материала, и целый ряд невирусных систем доставки, каждая имеет свои достоинства и недостатки [1]. Преимущество вирусных систем доставки заключается в их высокой специфичности и эффективности генного переноса, а главным недостатком является их потенциальная патогенность, поскольку вирусные векторы обладают онкогенными последовательностями способными встраиваться в клеточный геном и вызывать инсерционный мутагенез. Мы хотим обратить внимание на систему невирусной доставки генетического материала – полиэлектролитные капсулы.

Синтез многослойных полиэлектролитных капсул (Shell) проводят послойной адсорбцией полиэлектролитов (поочередно, поликатионов и полианионов) на частицах карбоната кальция CaCO_3 со структурой ватерита. БАВ вносят на стадии синтеза в поры частицы ватерита или вместо одного из слоев. После окончания процесса послойной адсорбции сферическая частица, служившая в качестве матрицы, при синтезе полиэлектролитных капсул удаляется (методом растворения) без повреждения структуры полиэлектролитной оболочки. Полиэлектролитные капсулы перспективны для доставки биологически активных веществ и генетического материала. Такие «контейнеры» безопасны, дешевы и просты в получении.

Целью данной работы является оценка цитотоксичности полиэлектролитных капсул, анализ эффективности трансфекции и экспрессии доставляемого гена.

Материалы и методы. В клеточную культуру НЕК 293 вносили капсулы, синтезированные в предшествующих работах. Работали с 96-луночным планшетом, в каждой лунке находилось 20000

клеток. Использовали капсулы микронных и субмикронных размеров, содержащие FITC/BSA (конъюгат флуоресцеина с BSA), Rh/BSA (конъюгат родамина с BSA), Derinat, плазмиду (кодирующую ген желтого флуоресцентного белка). В качестве исходной концентрации брали завышенную дозу (20 капсул на клетку), затем проводили раститровку. Спустя 24 часа провели оценку цитотоксичности капсул. Для оценки цитотоксичности использовали реагент жизнеспособности клеток alamarBlue. Резазурин, активный ингредиент реагента alamarBlue, является нетоксичным, проникаемым для клеток соединением синего цвета с низкой флуоресценцией. При попадании в живые клетки резазурин восстанавливается широким спектром ферментов, находящихся в цитоплазме, до резорурфина, соединения красного цвета и высокой флуоресценции. Изменения жизнеспособности могут быть легко обнаружены колориметрически или флуориметрически. После инкубации культуры клеток с реакционной смесью (культуральная среда + резазурин) в CO₂ инкубаторе в течение 4 часов, флуоресценцию детектируют на планшетном ридере при длине возбуждения 570 нм, испускания – 600 нм. Формулу для расчета токсичности (Tox) выводили из закона Бугера – Ламберта – Бера. Сравнивали оптическую плотность образцов с Shell и оптическую плотность контрольных образцов.

$$Tox = \frac{(O_2 \times A_1) - (O_1 \times A_2)}{(O_2 \times P_1) - (O_1 \times P_2)} \times 100\%$$

где O_1 - молярный коэффициент экстинкции (E) окисленного alamarBlue при 570 нм, O_2 - E окисленного alamarBlue при 600 нм, A_1 - оптическая плотность образцов при 570 нм, A_2 - оптическая плотность образцов при 600 нм, P_1 - оптическая плотность контрольных образцов (клетки плюс alamarBlue, но без тестируемого агента) при 570 нм, P_2 - оптическая плотность контрольных образцов (клетки плюс alamarBlue, но без тестируемого агента) при 600 нм. Показатель Tox, стремящийся к 100%, указывает на высокую жизнеспособность клеток в присутствии Shell, а стремящийся к 0% указывает на низкую жизнеспособность.

Для анализа эффективности трансфекции доставляемого гена, капсулы с плазмидой (содержащей кодирующую последовательность желтого флуоресцентного белка) вносили в культуру клеток НЕК 293. Оценка экспрессии гена в клетках проводили визуально с помощью конфокальной микроскопии (ZEISS, Германия).

Результаты и обсуждение. Исходя из расчетов, жизнеспособность клеток при концентрации 20 капсул на клетку составила 94% для Derinat Shell, при концентрации 5 капсул на клетку – 96%, и при концентрации 2.5 – 98%. Остальные значения можно увидеть на диаграмме. (Рисунок 1.)

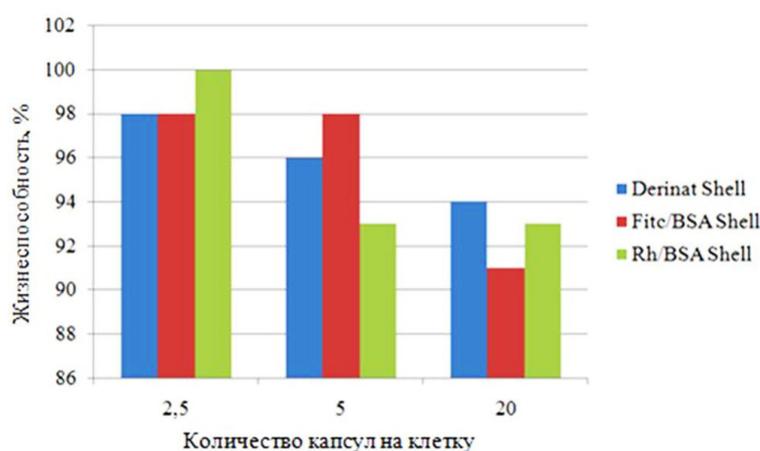


Рис. 1. Жизнеспособность клеток при различной концентрации капсул

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что завышенная концентрация капсул не оказывает пагубного воздействия на клетки. Размер капсул не влияет на жизнеспособность клеток..

Экспрессию генетического материала, доставляемого капсулами субмикронного размера, оценивали с помощью конфокальной микроскопии. На Рисунке 2 (а) можно увидеть, что клетки экспрессируют большое количество желтого флуоресцентного белка, а значит, капсулы субмикронных размеров отлично справляются с доставкой генетического материала в клетки. Для сравнения оцениваем доставку плазмиды, кодирующую желтый флуоресцентный белок, капсулами наноразмеров (Рисунок 2 (б)). Экспрессия белка значительно ниже, чем у капсул субмикронных размеров.

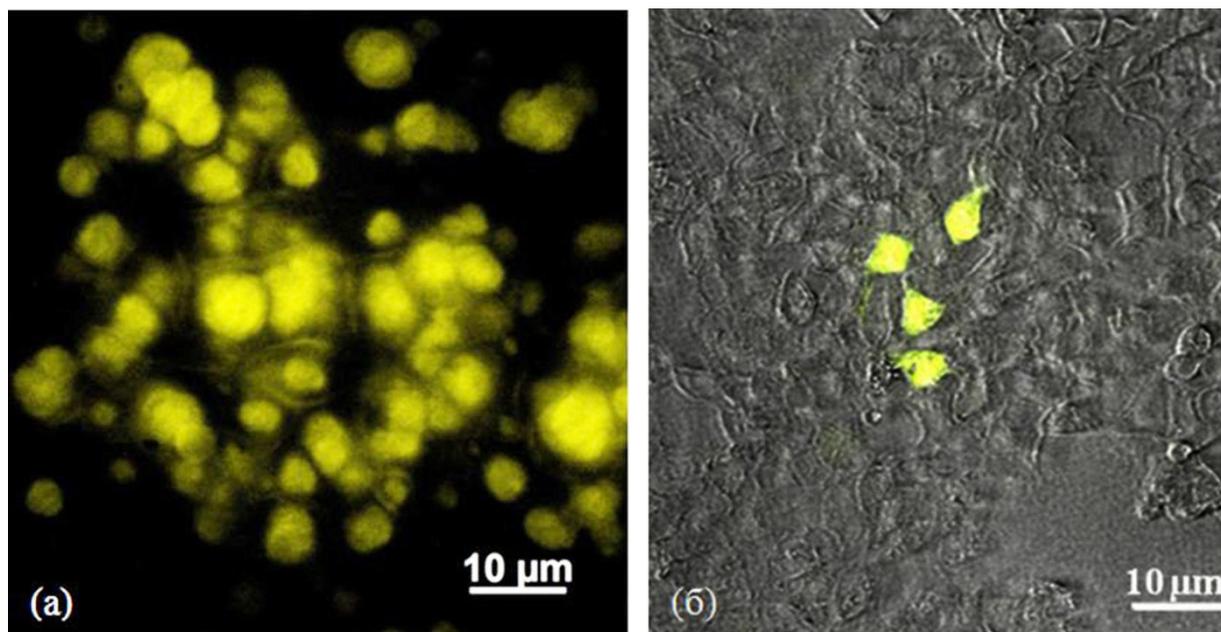


Рис. 2. Конфокальное изображение клеток HEK 293, экспрессирующих желтый флуоресцентный белок, при введении субмикронных капсул (а) и нанокapsул (б), содержащих плазмиду

Заключение. Полиэлектrolитные капсулы микро- и субмикро- размеров, поглощенные клетками линии HEK 293, обладают низкой цитотоксичностью. Жизнеспособность клеток больше 89% (в том числе при завышенных концентрациях капсул). Эффективная доставка генетического материала в клетки достигается путем использования полиэлектролитных капсул субмикронных размеров.

Работа выполнена в рамках Алферовской Зимней школы, проведенной 27 января -1 февраля 2020г. в Академическом университете им. Ж.И. Алферова, г. Санкт-Петербург.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апарцин Е.К., Кнауэр Н.Ю. Методы доставки генетического материала в клетки и возможности их применения в геной терапии // Гены & Клетки. – 2016. – Т. XI., № 2. – С. 32-41.
2. Tarakanchikova Y., Alzubi J., Pennucci V. Biodegradable Nanocarriers Resembling Extracellular Vesicles Deliver Genetic Material with the Highest Efficiency to Various Cell Types // Small. – 2019. – 1904880.

**ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ С АМПЛИФИКАЦИЕЙ ДЛИННОГО ПЛЕЧА 8 ХРОМОСОМЫ**

М.К. Ибрагимова, А.М. Певзнер, М.М. Цыганов

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

Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050

Национальный исследовательский томский государственный университет,

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

E-mail: imk1805@yandex.ru

**TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF GENE EXPRESSION IN A BREAST TUMOR WITH
AMPLIFICATION OF THE LONG ARM OF CHROMOSOME 8**

M.K. Ibragimova, A.M. Pevzner, M.M. Tsyganov

Scientific Supervisor: Ph.D., N.V. Litviakov

Tomsk National Research Medical Center, Russia, Kooperativny str. 5, Tomsk, 634050

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

E-mail: imk1805@yandex.ru

Abstract. *It is known that the overexpression of oncogenes in tumor cells, which are necessary for their growth and development, is often achieved through amplification or selective increase in the number of copies. Amplification of various oncogenes in tumor cells is an important prognostic factor for the development of cancer, and may also change the approach to drug therapy (chemotherapy, hormone therapy, targeted therapy) of tumors of various locations, including breast cancer [1]. It is now known that the frequency of occurrence in tumors of all localizations (177 types of tumors) amplification of the long arm of chromosome 8 (8q), in particular 8q24, is the most common copy number aberration (CNA) and occurs in more than 30% of all samples [2]. In this regard, it seems relevant to conduct a full transcriptome analysis of gene expression in a breast tumor with amplification of the long arm of chromosome 8 during preoperative chemotherapy.*

Актуальность работы. Согласно базе www.progenetix.org по частоте встречаемости при опухолях всех локализаций (177 типов опухолей) амплификация длинного плеча 8 хромосомы, в частности 8q24, оказалась наиболее распространенной абберацией числа копий (CNA) и встречалась более чем в 30% всех образцов [2]. Наиболее значимым геном в этом локусе по данным COSMIC является протоонкоген с-Мус, который участвует во многих сигнальных путях [3].

Целью настоящей работы явилось исследование изменений транскриптома опухоли молочной железы и статуса амплификации длинного плеча 8 хромосомы (с локусом 8q24) и в процессе предоперационной химиотерапии.

Материал и методы. В исследование включены 60 больных раком молочной железы (РМЖ) T1-4N0-2M0 люминального В подтипа, средний возраст 46,2±0,4 лет. Все пациенты получали 6-8 курсов НХТ на основе антрацилина (АС), таксана (АТ, АСТ), таксотера в монорежиме. Визуализация

первичного поражения молочной железы была выполнена с помощью маммографии и УЗИ, клинические ответы были классифицированы как полная регрессия (ПР), частичная регрессия (ЧР), стабилизация (СТ) и прогрессирование (П) по классификации ВОЗ. Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного материала до лечения и операционного материала для каждого из пациентов. Была выделена ДНК и РНК из исследуемого материала при помощи наборов QIAamp DNA mini Kit и RNeasy mini kit plus (Qiagen, Germany), соответственно. Наличие амплификаций в 8q определялось с использованием микроматрицы CytoScan HD Array. Экспрессию генов оценивали при помощи микроматрицы Clariom S Assays Human (Affymetrix, USA).

Результаты. Пациенты групп с наличием и отсутствием амплификации 8q не различались по основным клинико-морфологическим признакам, схемам и эффективности НХТ. Частота амплификации 8q в опухоли больных до лечения составила 62% (37/60). Из 37 больных амплификация 8q в опухоли после НХТ сохранилась у 24/37 пациентов (65%), кроме этого еще у 3 пациентов амплификации 8q в опухоли возникли de novo. Количество ДЭГ в опухоли до лечения у больных с наличием/отсутствием амплификации 8q составило 105 генов (41 up-regulated, 64 down-regulated) (здесь и далее $p\text{-value} < 0,05$ с поправкой FDR, fold change > 2 , < -2). После НХТ опухоли больных с наличием/отсутствием амплификации 8q различались по 2137 ДЭГ (1394 up-regulated, 780 down-regulated) (рис. 1а, 1б).

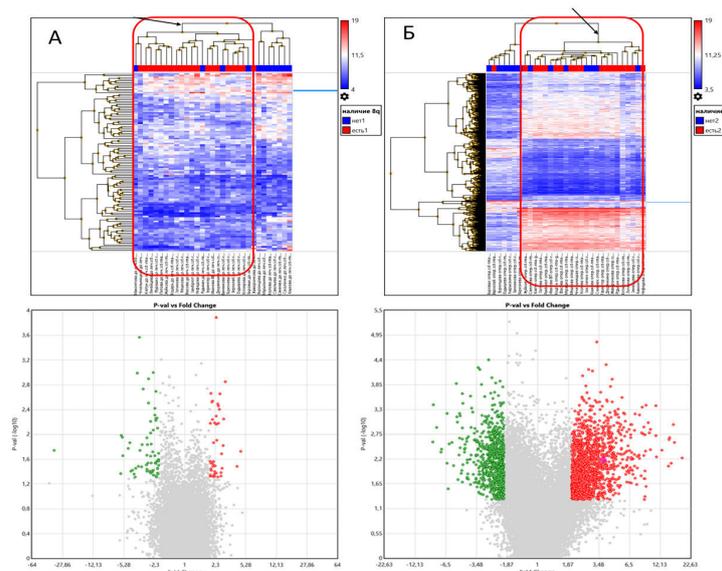


Рис. 1. Тепловая карта ДЭГ в опухоли больных РМЖ и Volcano-plot кластеризации генов: а - до лечения с наличием амплификации 8q (есть1) и без амплификации (нет1), б - после НХТ с наличием амплификации 8q (есть2) и без амплификации (нет2)

В топ-10 сигнальных путей попали MAPK Signaling Pathway и Circadian rhythm related genes для опухолей до лечения и после НХТ, различающихся по наличию в опухоли амплификации 8q. Построение диаграммы Венна показало, что ДЭГ у пациентов с наличием/отсутствием амплификации 8q до лечения и после НХТ пересекаются всего по 8 генам: *NBPF4*, *PI4KB*, *UGT2B11* UDP, *UGT2B28* UDP, *PLAT*, *MYBPC1*, *SETBP1*, *ZNF223*. При ЧР количество ДЭГ в опухоли после НХТ с наличием/отсутствием амплификации 8q составило 879 (601 up-regulated, 278 down-regulated). На фоне СТ количество ДЭГ в

опухоли больных после НХТ с наличием/ отсутствием амплификации 8q составило 1321 (652 up-regulated, 669 down-regulated) (рисунок 2а, 2б).

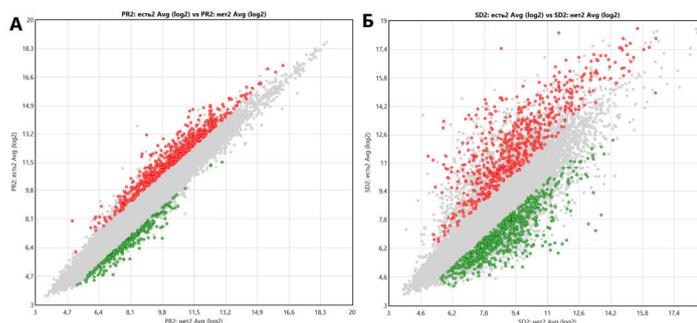


Рис. 2. Количество ДЭГ в резидуальной опухоли после НХТ с наличием/отсутствием амплификации 8q:
а - на фоне частичной регрессией, б - на фоне стабилизации

Диаграмма Венна по пересечению ДЭГ у пациентов с наличием/отсутствием амплификации 8q после НХТ и 51 гена стволовости показала, что общими являются 8 генов: *GSK3B*, *TERT*, *BMP6*, *MYC*, *GATA3*, *NANOG*, *SMAD4*, *SMAD2*. Выбор генов стволовости осуществлялся с помощью биоинформатического анализа баз данных, литературных источников и в зависимости от CNA-генетического ландшафта опухоли молочной железы. Для биоинформатического анализа использовали базы данных (<https://reactome.org/PathwayBrowser/#/R-HSA-452723&PATH=R-HSA-1266738&DTAB=MT>; <https://www.rndsystems.com/research-area/cancer-stem-cell-transcription-factors>; [4]). Важно, что в список вошел ген *MYC*, который показал экспрессию в дифференцированных опухолевых клетках *in situ* и в кровотоке у больных с метастазами. Кроме того, высокая экспрессия этого гена наблюдается у больных с амплификацией 8q, где и локализован ген. Таким образом, подтверждается, что амплификация локуса гена стволовости обеспечивает эктопическую экспрессию кластера генов стволовости.

Вывод. Изучен спектр ДЭГ и сигнальных путей, активированных/инактивированных в опухолях молочной железы до лечения/после НХТ, в зависимости от наличия амплификации 8q и ответа на НХТ.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-29-09131

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pareja F., Marchiò C., Reis-Filho J.S. Molecular diagnosis in breast cancer // *Diagnostic Histopathology*. – 2018. – V. 24, I. 2. – PP. 71-82
2. Cai H., Kumar N., Baudis M. Arraymap: A reference resource for genomic copy number imbalances in human malignancies // *PLoS ONE*. – 2012. – V.7, I.5, PP. e36944.
3. Jönsson G., Staaf J., Vallon-Christersson J., M. Ringnér, Holm K., Hegardt C., Gunnarsson H., Fagerholm R., Strand C., Agnarsson B.A., Kilpivaara O., Luts L., Heikkilä P., Aittomäki K., Blomqvist C., et al. Genomic subtypes of breast cancer identified by array-comparative genomic hybridization display distinct molecular and clinical characteristics // *Breast Cancer Res*. – 2010. – V. 12, R 42.
4. Weinberger L., Manor Y.S., Hanna J.H. Stem cell states: naive to primed pluripotency // *Molecular cell biology*. – 2015. – Document 900168.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ БЕЛКОВ CD8 И IL35 В СТРОМЕ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИЕ.О. Казакова¹, И.В. Ларионова^{1,2}, М.А. Ракина¹

Научный руководитель: д.б.н, профессор, Ю.Г. Кжышковска

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет

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

²НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН,

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

E-mail: kazakova.e.o@mail.ru**PROGNOSTIC VALUE OF CD8 AND IL35 IN COLON CANCER**E.O. Kazakova¹, I.V. Larionova^{1,2}, M.A. Rakina¹

Scientific Supervisor: Ph.D., professor, J.G. Kzhyshkowska

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue 36, 634050²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russia, Tomsk, Kooperativny Str. 5, 634009E-mail: kazakova.e.o@mail.ru

Abstract. *To date, colorectal cancer (CRC) remains a major health problem around the globe [1]. Tumor-associated macrophages (TAM) are currently considered as a very promising target for chemotherapy [2]. However in colon cancer the role of TAMs remains controversial. Thus, we studied the immune status of colorectal tumors and found that a decrease in the level of CD8 and IL35 indicates a poor prognosis and increased likelihood of lymphatic, but not hematogenous metastasis. Moreover, we have shown that IL35 is expressed in tumor-associated macrophages in colorectal cancer.*

Введение. В настоящее время колоректальный рак (КРР) остается одной из наиболее социально-значимых проблем здравоохранения во всем мире и входит в тройку лидеров по показателям смертности [1]. Ключевыми клетками врожденного иммунитета в опухолевом микроокружении являются опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ) [3]. Актуальной является задача выявления субпопуляций ОАМ и других клеток иммунной системы опухолевого микроокружения, существующих при КРР, как они влияют на течение и исход заболевания.

Материалы и методы. В настоящее исследование были включены 74 пациента с морфологически верифицированным диагнозом аденокарцинома толстой кишки. Все больные были разделены на 3 группы относительно более уточненного диагноза в отношении локализации: больные раком прямой кишки (N=23), больные раком ректосигмоидного отдела (N=21) и больные раком ободочной кишки (N=30).

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов опухолей осуществлялось по стандартной методике. Первичные антитела разводились в 1% BSA. Применялись мышиные антитела к CD8 (Dako, без разведения), кроличьи анти-IL35 (1:60). Вторичные антитела подбирались в соответствии с первичными антителами и наносились на образцы по следующей схеме: для мышиных и кроличьих антител использовалась визуализирующая система Dako или Spring Bioscience. Наличие позитивной экспрессии определялось следующим образом: 1 балл (+) – 1-2 клетки в поле зрения; 2 балла (++) – 3-5

клеток в поле зрения; 3 балла (+++) – 6-10 клеток в поле зрения, 4 балла (++++) – более 10 клеток в поле зрения (увеличение x400).

Иммунофлюоресцентное окрашивание проводилось по аналогичной иммуногистохимическому окрашиванию методике с использованием флюоресцентно-меченных вторичных антител. Разведение антител было следующим: первичные крысиные анти-CD68 (1:50) и вторичные анти-крысиные Alexa647-меченные антитела, кроличьи анти-IL35 (1:200) и вторичные Cy3, мышьиные анти-HLA-DR (1:100) и вторичные AlexaFluor488 (для вторичных антител все разведения 1:400). Для окрашивания ядер использовался флюоресцентный ядерный краситель DAPI.

Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 6.0 for Windows». Применялся корреляционный анализ по Спирмену, тест Манна-Уитни.

Результаты. В результате иммуногистохимического исследования экспрессионного профиля опухолеассоциированных макрофагов в строме карциномы толстого кишечника были обнаружены маркеры, обладающие прогностической значимостью (Рис.1). Нами было показано, что среди пациентов в общей группе больных колоректальным раком при наличии лимфогенного метастазирования (ЛМ) наблюдалось уменьшение экспрессии маркера CD8 ($2,21 \pm 1,08$, $n=23$) и IL35 ($3,17 \pm 0,83$, $n=23$) по отношению к группе пациентов без лимфогенных метастазов ($3,15 \pm 1,05$ ($n=40$), $p=0,0015$ и $3,52 \pm 0,94$ ($n=42$), $p=0,031$ соответственно). В зависимости от локализации опухоли, было обнаружено, что у больных с раком прямой кишки, как и в общей группе, экспрессии CD8 ($2,0 \pm 1,15$, $n=10$) и IL35 ($3,2 \pm 0,78$, $n=10$) при наличии лимфогенного метастазирования была меньше по сравнению с группой пациентов без лимфогенных метастазов ($3,0 \pm 1,0$ ($n=11$), $p=0,045$ и $3,83 \pm 0,38$ ($n=12$), $p=0,029$, соответственно). У больных раком ректо-сигмоидного отдела толстой кишки наблюдалась высокая экспрессия CD8 ($3,30 \pm 0,94$, $n=10$) при отсутствии лимфогенного метастазирования по сравнению со случаями наличия лимфогенных метастазов ($2,00 \pm 1,00$ ($n=5$), $p=0,027$). В отношении больных раком ободочной кишки, у которых наблюдались гематогенные метастазы уровень экспрессии CD8 ($1,5 \pm 0,7$, $n=2$) и IL35 ($2,5 \pm 0,7$, $n=2$) был ниже по сравнению с группой больных, у которых не было обнаружено отдаленного метастазирования ($3,04 \pm 1,17$, $n=25$, $p=0,092$ и $3,5 \pm 0,9$, $n=26$, $p=0,059$, соответственно).

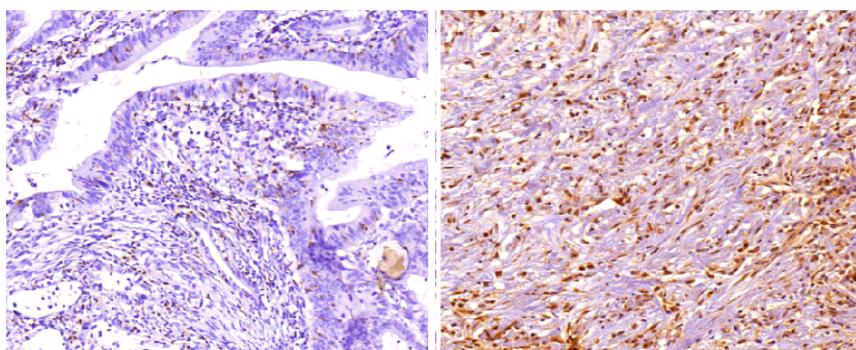


Рис. 1. Позитивная экспрессия CD8 (слева) и IL-35 (справа) при иммуногистохимическом окрашивании стромы опухоли толстой кишки

Таким образом, было показано, что маркеры CD8 и IL35 обладают прогностическим потенциалом повышенной экспрессии этих маркеров в отношении отсутствия ЛМ у пациентов с колоректальным раком.

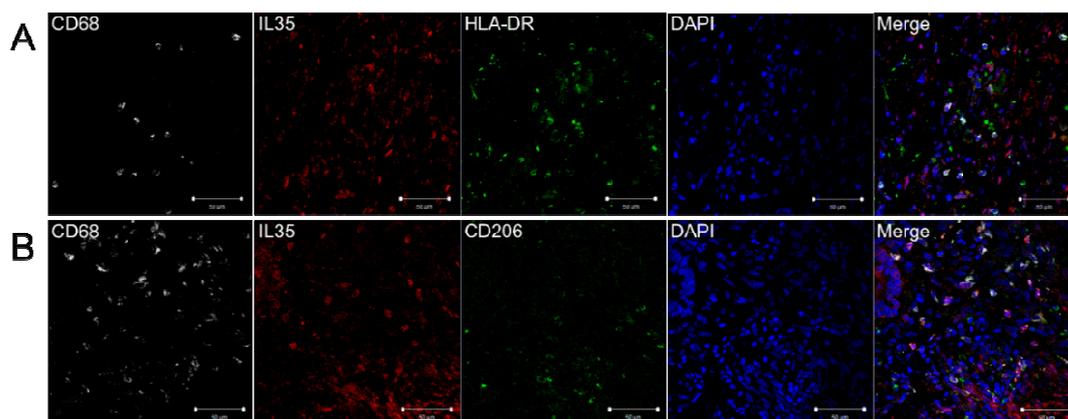


Рис.2. Конфокальная микроскопия локализации IL35 в M1 и M2 макрофагах в опухоли толстого кишечника. В качестве общего маркера макрофагов выступал CD68. В качестве маркера M1 макрофагов - HLA-DR, а в качестве маркера M2 макрофагов – CD206. Ядра визуализировались синим красителем DAPI

В результате иммунофлуоресцентного исследования было показано, что IL35 является маркером опухолеассоциированных макрофагов рака толстого кишечника, и экспрессируется как M1, так и M2 субпопуляцией макрофагов (Рис. 2).

Закключение. В результате исследования было установлено, что повышенная экспрессия белков CD8 и IL35 в строме опухоли толстой кишки связана с отсутствием лимфатического метастазирования у пациентов с раком толстого кишечника. Полученные результаты позволяют предполагать, что CD8 и IL35 могут рассматриваться в качестве потенциальных маркеров отсутствия метастазов у больных колоректальным раком.

Работа поддержана грантом РФФ №19-15-00151.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shawki S., Ashburn J., Signs S. A., Huang E. Colon cancer: inflammation-associated cancer // *Surgical Oncology Clinics*. – 2018. – Т. 27, № 2. – С. 269-287.
2. Kzhyshkowska J. G. E., Larionova I. Targeting the tumor-associated macrophages for ‘normalizing’ cancer // *Targeting the tumor-associated macrophages for ‘normalizing’ cancer*. – 2020. – Т. (Springer Nature, manuscript accepted, 2020 г.).
3. Pathria P., Louis T.L., Varner J.A. Targeting tumor-associated macrophages in cancer // *Trends in immunology*. – 2019.

**ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРА C-JUN N-ТЕРМИНАЛЬНОЙ КИНАЗЫ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА У КРЫС**

О.А. Кайдаш, Е.Е. Буйко, А.Р. Коврижина

Сибирский государственный медицинский университет,

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

E-mail: kaidash_2011@mail.ru

**HYPOGLYCEMIC ACTION OF THE C-JUN N-TERMINAL KINASE INHIBITOR ON
EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES RATS**

O.A. Kaydash, E.E. Buyko, A.R. Kovrizhina

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moskovsky trakt, 2, 634050

E-mail: kaidash_2011@mail.ru

***Abstract.** Investigation of new effective antidiabetic agents that can inhibit the hyperglycemia development and their targets remains relevant. It is known that an increase in circulating free fatty acids activates the c-Jun N-terminal kinase, involved in the insulin receptor phosphorylation, induces insulin resistance and causes defection in insulin secretion. The purpose of this study was to investigate the new JNK inhibitor IQ-1 antidiabetic effect on experimental type 2 diabetes mellitus caused by a high-fat diet with a single injection of streptozotocin in rats. The administration of JNK inhibitor IQ-1 (20 mg/kg) for 14 days on experimental type 2 diabetes mellitus in rats caused by a high-fat diet and a single injection of streptozotocin at the low dose led to a decrease in the development of hyperglycemia and insulin resistance. One of this effect possible mechanisms includes an ability of IQ-1 to reduce the free fatty acids level in the serum of rats with experimental type 2 diabetes.*

Введение. Сахарный диабет 2 типа (СД2) представляет собой сложное метаболическое расстройство, характеризующееся изменениями липидного, белкового и углеводного обменов, инсулинорезистентностью (ИР) и дисфункцией β-клеток поджелудочной железы [1]. ИР характеризуется уменьшением опосредованного инсулином поступления глюкозы в ткани. В настоящее время активно изучается роль циркулирующих в крови свободных жирных кислот (СЖК) в развитии ИР. Показано, что повышение циркулирующих в крови СЖК активирует участвующую в процессе фосфорилирования инсулинового рецептора c-Jun N-терминальную киназу (JNK), индуцирует ИР и нарушает секрецию инсулина.

Цель настоящего исследования – изучить противодиабетическое действие нового ингибитора JNK IQ-1 при экспериментальном СД2, вызванном высокожировой диетой и однократной инъекцией стрептозотоцина у крыс.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на 24 аутбредных крысах самцах Wistar массой 300–400 г, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей ФГБУ НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга. Экспериментальный СД2 вызывали кормлением животных высокожировой диетой, содержащей в 100 г 26 г кокосового масла, 2 г холестерина и 72 г стандартного корма для лабораторных животных (55% энергии обеспечивали жиры) [2] в течение 28 сут, с последующей однократной инъекцией стрептозотоцина (35 мг/кг в 0,1 М цитратном буфере с pH 4,5). Через 14 дней после инъекции диабетогена животным экспериментальной группы на фоне

высокожировой диеты ежедневно в течение 14 дней вводили внутривенно водную суспензию ингибитора JNK IQ-1 в дозе 20 мг/кг. На 57-й день от начала эксперимента у животных всех групп проводили пероральный глюкозотолерантный тест (ГТТ) (2 г/кг 20% раствора глюкозы). Уровень глюкозы в цельной крови крыс измеряли натощак и через 15, 30, 60 и 120 мин после введения глюкозы. После завершения эксперимента крыс умерщвляли асфиксией в атмосфере углекислого газа. В сыворотке крови определяли содержание глюкозы, ТАГ и СЖК с помощью ферментативных наборов (Randox, Великобритания) и инсулина - иммуноферментным методом с помощью ИФА-набора ALPCO Diagnostics (США).

Результаты. Установлено, что кормление крыс диетой с высоким содержанием жиров (55% энергии корма за счет жиров) и однократная инъекция стрептозотоцина в низкой дозе приводит к развитию гипергликемии (концентрация глюкозы в сыворотке крови экспериментальных животных возрастала в 3 раза ($p < 0,05$)). Содержание инсулина не изменялось по сравнению с показателями группы контроля, получавших стандартный лабораторный корм, но индекс НОМА-IR, характеризующий развитие толерантности к глюкозе, был в 3 раза выше у экспериментальных животных (таблица 1).

Таблица 1

Влияние ингибитора JNK IQ-1 (20 мг/кг, 14 дней) на биохимические параметры сыворотки крови крыс при экспериментальном сахарном диабете 2 типа, Me [Q₁;Q₃]

Показатели	Контроль (n=8)	Сахарный диабет 2 типа (n=8)	Сахарный диабет 2 типа + ингибитор JNK IQ-1 (n=8)
Свободные жирные кислоты, мМ	0,72 [0,56;0,83]	1,40* [1,27;1,77]	1,13* [#] [1,01;1,20]
Триглицериды, ммоль/л	1,21 [0,73;1,41]	5,08* [2,92;7,03]	1,85* [#] [1,33;3,11]
Глюкоза, ммоль/л	5,06 [4,84;5,26]	16,85* [15,69;17,36]	12,66* [#] [12,06;12,93]
Инсулин, пг/мл	328,8 [229,1;520,4]	329,6 [312,7;626,2]	355,9 [279,1;521,2]
НОМА-IR	1,9 [1,2;3,2]	6,8* [5,2;11,4]	5,4* [#] [4,0;6,8]

*Примечание – * достоверность различий в сравнении с контрольной группой, $p < 0,05$ [#] достоверность различий по сравнению с группой сахарного диабета 2 типа, $p < 0,05$*

Гипергликемия у животных с СД2 в крови и повышение индекса НОМА-IR свидетельствует о развитии ИР и неспособности β -клеток компенсаторно повышать секрецию гормона в ответ на повышенный уровень глюкозы, что является ведущим звеном патогенеза СД2. У крыс с экспериментальным СД 2 при проведении ГТТ исходный уровень глюкозы в крови после ночного голодания был значительно повышен (17,1 (15,0-17,9) ммоль/л) по сравнению со значением у животных контрольной группы (4,2 (4,0-4,3) ммоль/л) и превышал этот показатель у крыс контрольной группы во все интервалы времени после введения глюкозы (рисунок 1). Эти данные подтверждают значительное нарушение чувствительности β -клеток поджелудочной железы к глюкозе, а тканей к эндогенному инсулину у животных с экспериментальным СД2 по сравнению с контрольной группой. Нарушение липидного обмена у животных с экспериментальным СД 2 выражается в повышении содержания в сыворотке крови СЖК в 2 раза и ТАГ в 4,2 раза по сравнению с показателями контрольной группы

(таблица 1). Внутривнутрибрюшинное введение ингибитора JNK IQ-1 в течение 14 дней на фоне экспериментального СД2 способствовало снижению уровня глюкозы в сыворотке крови животных в 1,3 раза ($p < 0,05$), СЖК и ТАГ в 1,3 и 2,8 раза соответственно по сравнению с показателями группы СД2 (таблица 1). Уровень глюкозы при проведении ГТТ на фоне применения IQ-1 был ниже во все интервалы времени после нагрузки глюкозой по сравнению с группой экспериментального СД2 и незначительно повышался на протяжении проведения теста (рисунок 1).

Таким образом, курсовое введение ингибитора JNK IQ-1 крысам с экспериментальным СД2 оказывало противодиабетическое действие, которое выражалось в снижении уровня глюкозы, СЖК и ТАГ в сыворотке крови.

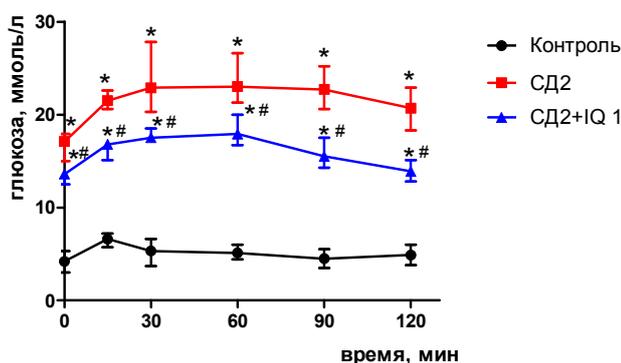


Рис. 1. Влияние курсового введения IQ-1 (14 дней, 20 мг/кг) на изменение уровня глюкозы в крови крыс с экспериментальным СД 2 при проведении перорального глюкозотолерантного теста (2 г/кг 20% раствора глюкозы). Примечание – * достоверность различий по сравнению с контролем, $p < 0,05$, # достоверность различий по сравнению с группой СД 2, $p < 0,05$

Заключение. При экспериментальном сахарном диабете 2 типа у крыс, вызванным высокожировой диетой и однократной инъекцией низкой дозы стрептозотоцина, применение нового ингибитора JNK IQ-1 приводило к уменьшению развития гипергликемии и ИР. Одним из возможных механизмов этого эффекта является способность IQ-1 снижать уровень СЖК в сыворотке крови крыс с экспериментальным СД 2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gheibi S., Kashfi K., & Ghasemi A. A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: Incorporating a high-fat diet and streptozotocin // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2017. – № 95. – P. 605–613.
2. Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin // Journal of diabetes investigation. – 2014. – № 54. – P. 349–358.

ЛОКАЛЬНАЯ ГЕМОДИНАМИКА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ

Н.В. Киреева

Научные руководители: профессор, д.ф.-м.н., В.П. Демкин; доцент, С.В. Мельничук

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

E-mail: natali@adrenaline.zone

LOCAL HEMODYNAMICS OF CORONARY VESSELS

N.V. Kireyeva

Scientific advisers: Prof., Dr. of Physics and Mathematics, V.P. Demkin;

Associate Professor, S.V. Melnichuk

Tomsk State University, Russia, Tomsk, pr. Lenina 30, 634050

Email: natali@adrenaline.zone

***Abstract.** The aim of the study in this work was to develop a quasistationary one-dimensional model of hemodynamics and to determine the fractional reserve of blood flow in the stenosed section of the coronary artery. The calculation results showed that this model gives good agreement between the calculated FFR and the published data. Based on the constructed hemodynamic model, a numerical experiment was conducted to determine blood flow in the normal coronary artery and in the presence of stenosis.*

Введение. Ишемическая болезнь сердца (ИБС), возникающая вследствие нарушения коронарного кровоснабжения, обусловленного стенозирующим атеросклерозом коронарных артерий, является одним из наиболее распространенных кардиологических заболеваний во всем мире и занимает лидирующие позиции среди причин инвалидизации и смертности пациентов [1]. Современным подходом к решению задачи гемодинамической значимости стенозов коронарных артерий является оценка фракционированного резерва кровотока (ФРК).

ФРК определяется как отношение максимального кровотока в суженной артерии к максимальному кровотоку в этом же сосуде без стеноза. Таким образом, ФРК является отношением скоростей кровотока, которое также можно выразить как отношение давления.

$FFR = Pd/Pa$, где P_a — давление в аорте, а P_d давление в постстенотическом участке, измеренное при максимальной вазодилатации [2]. В норме ФРК должно быть равным 1 у всех пациентов и во всех КА. Пороговая величина ФРК степени ишемии миокарда определена в клинических исследованиях при сравнении с неинвазивными нагрузочными тестами. ФРК $<0,75$ достоверно ассоциировано с индуцированной стрессом ишемией миокарда (специфичность 100%, диагностическая ценность положительного результата теста 100%, диагностическая ценность отрицательного результата теста 88%) [2]. В настоящее время рекомендовано использовать в качестве пороговой величины ФРК $<0,80$ [3].

Целью исследования в данной работе являлось разработка квазистационарной двухмерной модели гемодинамики и определение фракционного резерва кровотока на стенозированном участке коронарной артерии.

Экспериментальная часть. Для экспериментального исследования ФРК необходимы специальные внутрисосудистые датчики, с помощью которых можно измерять давление в КА и аорте. К

сожалению измерение ФРК методом внутрисосудистых датчиков сопряжено с вероятностью повреждения стенок сосуда. Оценка ФРК может быть выполнена неинвазивно с помощью математического моделирования на основе данных о геометрии сосуда на основе снимков МРТ.

Основой численного моделирования коронарной двухмерной гемодинамики являются нестационарные уравнения Навье–Стокса совместно с уравнениями динамики эластичных оболочек сосудов в приближении крови как вязкой несжимаемой жидкости.

Для проведения моделирования течения крови по коронарным артериям была задана геометрия исследуемого участка коронарных артерий на основании литературных данных [4, 5]. Расчет распределения давления и скорости кровотока на участке коронарной артерии без стеноза проводился с помощью программной среды COMSOL Multiphysics® версии 4.2. В этой среде методом конечных элементов численно решалось уравнение Навье–Стокса. Среднее давление на левой границе задавалось равным 100 Торр. Давление на правой границе задавалось равным 0 Торр. Для того чтобы определить геометрию правой границы, учитывающую наличие сосудистой системы, использовалась скорость кровотока в нисходящей левой коронарной артерии – 0.4 м/с. При измерении FFR инвазивным методом (датчик давления) для увеличения скорости кровотока используют сосудорасширяющие препараты, например, аденозин. Проводя численное моделирование, было принято, что расширение сосудов приводит к возрастанию скорости кровотока в 4 раза. При фиксированной разности давлений, диаметр правой границы подбирался таким образом, чтобы на левой границе скорость кровотока стала равной 1.6 м/с.

Результаты. Как показали расчеты, при появлении стеноза (75%), скорость на левой границе снизилась от 1.6 м/с до значения 1.4 м/с, в центре стеноза стала равной 4.8 м/с, а на расстоянии 5 см от левой границы имеет значение 1.5 м/с. На рисунке 1 представлены результаты расчета распределение давление вдоль прямолинейного участка коронарной артерии с 70% стенозом, отношение дистального и проксимального давлений при действии аденозина составляет $FFR \approx 0.67$. Это значимый стеноз, который, как правило, лечится инвазивными методами. Результаты расчетов показали, что данная модель дает хорошее согласие рассчитанной FFR с литературными данными.

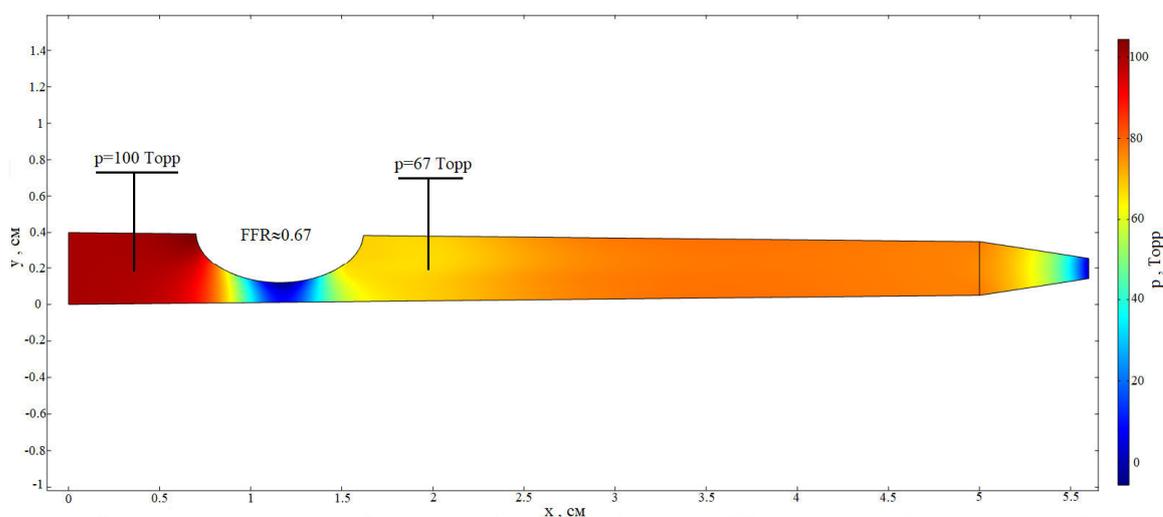


Рис. 1. Распределение давления на выбранном прямолинейном участке коронарной артерии со стенозом

Использование при аналогичных расчетах открытой левой границы дало хорошее согласие с ранее полученными результатами на неразветвленном участке коронарной артерии. Сравнение расчетов сужающейся левой границей и открытой левой границей на Y – образном участке коронарной артерии показало их значительное отличие.

Заключение. Из проведенного сравнительного анализа результатов расчета характеристик кровотока в коронарных артериях с различными граничными условиями следует, что использование скорости кровотока и открытой границы приводит к тем же результатам, что и в случае давления в качестве граничных условий с давлением. Анализ аналогичных результатов при использовании сегмента коронарных артерий с разветвлением показал, что при неизменной геометрии задачи, результаты этих случаев не согласуются между собой. Использование давления в качестве граничных условий и скорости кровотока на левой границе, для задания модельного представления правой границы, однозначно определяют рассчитываемые характеристики кровотока. Применение открытой границы со стороны сосудистой системы не учитывает, как ее особенности, так и особенности разветвлений коронарных артерий, за пределами рассматриваемой локальной двухмерной, которые влияют на вид распределения характеристик кровотока и их абсолютные значения.

Результаты исследования получены при поддержке Программы повышения конкурентоспособности ТГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Всемирная организация здравоохранения. URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
2. Копылов Ф.Ю., Быкова А.А., Василевский Ю.В., Симаков С.С. // Терапевтический архив. – 2015. – № 9. – С. 106–113.
3. ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) // Eur Heart J. – 2014. – V. 35, no. 37. –P. 2541–2619.
4. Raut BK, Patil VN, Cherian G. // Indian Heart J. – 2017. – V. 69, no. 4. – P. 512–514.
5. Pamela S. Douglas, John Fiolkoski, Barbara Berko, Nathaniel Reichel // Journal of the American College of Cardiology. – 1988. – V. 11, Is. 3. – P. 565–571.

**ФИЗИЧЕСКИЙ СТАТУС ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ
ФАКТОР РИСКА РЕЦИДИВИРОВАНИЯ У ВПЧ16-ПОЗИТИВНЫХ БОЛЬНЫХ С
ЦЕРВИКАЛЬНЫМИ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ
ТЯЖЕСТИ**

Е.В. Кокорина, М.К. Ибрагимова, М.М. Цыганов

Научный руководитель: м.н.с. М.К. Ибрагимова

НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН,

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

E-mail: djedje@mail.ru

**PHYSICAL STATUS OF THE HUMAN PAPILLOMA VIRUS AS A PROGNOSTIC FACTOR FOR
RECCURENCE IN HPV16-POSITIVE PATIENTS WITH CERVICAL INTRAEPITELIAL
NEOPLASIES**

E.V. Kokorina, M.K. Ibragimova, M.M. Tsyganov

Scientific Supervisor: junior researcher M.K. Ibragimova

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russia, Tomsk, Kooperativny Str., 5, 634050,

E-mail: djedje@mail.ru

Abstract. HPV physical status is believed to be a prognostic factor in cervical cancer. We assumed that the physical status of HPV would have predictive significance for LSIL and HSIL. The study involved 37 patients with LSIL, 131 with HSIL, and 150 women with no pathological changes in cervical mucous. The comprehensive survey included gynecological examination, 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 (n = 208). 50.7% of healthy women were found to be infected with HPV, as well as 78.5% of patients with LSIL+ HSIL. The cervical canal epithelium changes progress was found to correlate with the increase in the number of integrated and mixed forms and decrease in the number of episomal forms. As a result, it was found that the frequency of recurrence in cervical intraepithelial neoplasms of varying severity is determined by the physical status of HPV16.

Актуальность. Вирус папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенно риска (ВКР) является важнейшим этиологическим фактором рака и предраковых патологий шейки матки, то есть цервикальных интраэпителиальных неоплазий различной степени тяжести – LSIL (Low grade squamous intraepithelial lesion, низкая степень интраэпителиального повреждения плоского эпителия) и HSIL (High grades quamous intraepithelial lesion, высокая степень интраэпителиального повреждения плоского эпителия) [1]. В качестве стандартного показателя инфицирования вирусом применяется оценка вирусной нагрузки ВПЧ ВКР, однако, согласно результатам собственных предыдущих исследований, с ее помощью нельзя прогнозировать безрецидивную выживаемость [2]. Другим исследуемым показателем вирусной инфекции является физический статус вируса. ВПЧ после проникновения в клетку может существовать в 3-х различных функциональных состояниях: эписомальная (свободная) форма (вне хромосом клетки), интегрированная (встроенная) (встроена в геном клетки) и смешанная форма

(одновременное наличие свободного и встроенного в ДНК клетки-хозяина вируса) [3]. Показано, что физический статус является прогностическим фактором при РШМ и с помощью его определения можно прогнозировать исход у больных [4]. Мы предположили, что физический статус ВПЧ так же, как и при РШМ, будет иметь прогностическую значимость и при LSIL/HSIL.

Таким образом, целью исследования явился поиск молекулярно-вирусологического критерия для прогнозирования риска рецидивирования у больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести.

Материал и методы. Обследовано 318 женщин, разделенных на две группы исследования согласно наличию/отсутствию морфологических изменений шейки матки - 150 женщин, не имеющих морфологических изменений шейки матки и 168 пациенток с наличием диспластических изменений шейки матки различной степени тяжести, в том числе: 37 пациенток с LSIL и 131 пациентка с HSIL. Материалом для исследования служили соскобы эпителия цервикального канала и наружной части шейки матки. Всем пациенткам было проведено комплексное обследование, включающее гинекологический осмотр, кольпоскопию, цитологическое, гистологическое исследование, выявление и генотипирование ВПЧ ВКР, оценка вирусной нагрузки ДНК ВПЧ. После проведения генотипирования ДНК ВПЧ была выделена группа с носительством моноинфекции ВПЧ 16 генотипа (n=208), включающая 76 пациенток без морфологических изменений шейки матки, 20 пациенток с LSIL и 112 больных с HSIL. Для данной группы больных было проведено определение физического статуса ДНК ВПЧ 16 типа. Качественное и количественное определение ДНК ВПЧ было проведено при помощи метода Real-Time PCR с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» ("АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL", "АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-FL"). Анализ результатов исследования ДНК биологического материала осуществлялся при помощи программы, заложенной в стандартную инструкцию к набору реагентов «Amplisens®» ВПЧ ВКР скрин-титр-FL».

Результаты. Общая инфицированность ВПЧ ВКР составила 50,7% (76/150) и 78,5% ((20 и 112) /168, соответственно) среди пациенток без морфологических изменений шейки матки и в группе пациенток с LSIL/HSIL соответственно (($p=1,4 \cdot 10^{-7}$, OR (95CI%) = 3,50 (2,19-5,81) по сравнению с группой обследованных без морфологических изменений шейки матки). При определении вирусной нагрузки было показано, что количество пациенток с показателем клинически малозначимой вирусной нагрузки в группе условно здоровых женщин составило 78,7%; в группе больных LSIL+HSIL – 32,5%. Показатель клинически значимой вирусной нагрузки у женщин без морфологических изменений шейки матки составил 21,3%; в группе больных LSIL +HSIL – 67,4% ($p=6,1 \cdot 10^{-11}$). Анализ частоты встречаемости различных типов ВПЧ ВКР показал преобладание ВПЧ 16 типа в обеих группах: 65,8% (50/76) среди женщин без морфологических изменений шейки матки и 79,5% (105/132) среди пациенток с LSIL+HSIL ($p=0,03$, OR(95CI%) = 2,00 (1,07-3,82)). В группе ВПЧ16-позитивных пациенток показано увеличение частоты встречаемости интегрированных (2,0% и 20,0% у пациенток без морфологических изменений эпителия шейки матки и пациенток с диагнозом LSIL+HSIL, соответственно) и смешанных (76,0% и 74,3%) форм ВПЧ и уменьшение частоты эписомальных форм (22,0% и 5,7%) по мере перестройки эпителия шейки матки; различия являются статистически значимыми ($p=0,0002$). Было проанализировано влияние на частоту рецидивирования следующих показателей: степень тяжести дисплазии, внутриклеточный статус ВПЧ (физический статус) и вирусной нагрузки. Анализ показал, что

среди ВПЧ16-положительных пациентов частота рецидивирования зависит от формы интеграции вируса ($p=0,000$) (рисунок 1), тогда как наличие клинически значимой вирусной нагрузки ($p=0,128$) и степень дисплазии ($p=0,126$) не влияет на частоту возникновения рецидивов в группе пациенток с CIN 1-3.

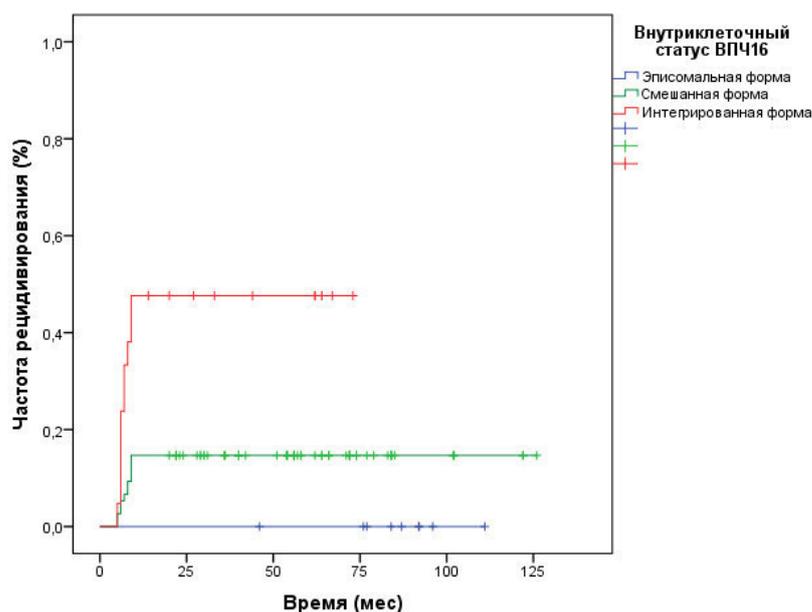


Рис. 1. Частота рецидивирования интраэпителиальной неоплазии в зависимости от внутриклеточного статуса ВПЧ ($p=0,000$)

Вывод. Установлена прогностическая значимость определения физического статуса ВПЧ 16 типа в отношении рецидивирования цервикальных интраэпителиальных неоплазий различной степени тяжести, согласно которому наличие эписомальной формы вируса является благоприятным прогностическим фактором, тогда как интегрированная форма вируса является неблагоприятным фактором прогноза, и рецидив таких больных наступает в более чем 50 % случаев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Apgar B.S., Zoschnick L., & Wright T.C. Jr. The 2001 Bethesda System terminology // American family physician. – 2003. – № 68. – P. 1992–1998.
2. Ibragimova M., Tsyganov M., Shpileva O., Churuksaeva O., Bychkov V., Kolomiets L., & Litviakov N. HPV status and its genomic integration affect survival of patients with cervical cancer // Neoplasma. – 2018. – № 65. – P. 441–448.
3. Jiang M., Baseman J.G., Koutsky L.A., Feng Q, Mao C, Kiviat N.B., & Xi L.F. Sequence variation of human papillomavirus type 16 and measurement of viral integration by quantitative PCR // Journal of clinical microbiology. – 2009. – № 47. – P. 521–526.
4. Joo J., Shin H., Par B., Park S., Yoo C., Yoon K., Kong S., Kim Y., Kim S.S., & Kim J. Integration Pattern of Human Papillomavirus Is a Strong Prognostic Factor for Disease-Free Survival After Radiation Therapy in Cervical Cancer Patients // International journal of radiation oncology, biology, physics. – 2017 – № 98. – P. 654–661.

**РАЗРАБОТКА И ТЕСТИРОВАНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО СОСУДИСТОГО ПРОТЕЗА С
ВНЕШНИМ АРМИРУЮЩИМ КАРКАСОМ.**

Е.О. Кривкина, М.А. Резвова, В.В. Севостьянова

Научный руководитель: д.м.н. Л.В. Антонова

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,

Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар 6, 650002

E-mail: leonora92@mail.ru

**DEVELOPMENT AND TESTING OF A BIODEGRADABLE VASCULAR PROSTHESIS WITH AN
EXTERNAL REINFORCING FRAME.**

E.O. Krivkina, M.A. Rezvova, V.V. Sevostyanova

Scientific Supervisor: Dr. L.V. Antonova

Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular

Diseases", Russia, Kemerovo, 6, Sosnovy Boulevard, 650002

E-mail: leonora92@mail.ru

***Abstract.** Tissue-engineered vascular prostheses used in cardiovascular surgery should be able to fully function in the vascular bed, namely, they are resistant to all kinds of excesses and pressure. One of the ways to improve mechanical properties is to strengthen the prosthesis wall with a reinforcing frame. This study evaluated the mechanical properties of vascular prostheses reinforced with a reinforcing framework, as well as their effect on surrounding tissues when implanted into the carotid artery of sheep for a period of one year.*

Введение. Тканевая инженерия - новая область современной медицины, объединяющая в себе подходы биоинженерии и клеточной биологии для живых тканей при лечении патологических состояний, связанных с повреждением или утратой тканей, или органов [1]. В настоящее время ведутся активные разработки по созданию функционально активных тканеинженерных сосудистых протезов малого диаметра из биосовместимых и биodeградируемых полимеров [2].

Однако, несмотря на множество экспериментальных работ, механические свойства искусственных матриксов пока еще не способны в полной мере обеспечить целостность тканеинженерной конструкции под давлением в кровеносном русле и местах возможного перегиба сосуда [3]. Следовательно, важнейшей задачей является разработка укрепленных каркасом сосудистых протезов, предусматривающих перегиб в процессе имплантации и функционирования протеза.

Одним из основных способов укрепления стенки сосудистого графта является использование армирующих конструкций из биостабильных или биodeградируемых полимеров [4].

Экспериментальная часть. При изготовлении полимерных графтов с армирующим каркасом были объединены приемы создания биофункционализированных сосудистых графтов и метода послойного наплавления полимерной нити для формирования внешнего армирующего каркаса. С помощью метода двухфазного электроспиннинга изготавливали образцы сосудистых графтов диаметром 4 мм из композиции полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона (PHBV/PCL), с биологически активными молекулами GFmix: сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF),

инкорпорированный во внутреннюю треть стенки протеза, основным фактором роста фибробластов (bFGF) и хемоаттрактантной молекулой SDF-1 α , инкорпорированных во внешние 2/3 стенки протеза.

Для создания армирующей спирали на внешней поверхности изготовленного протеза PNBV/PCL/GFmix, использовали метод послойного наплавления, который позволяет изготавливать модели из нагретого термопластичного материала путем его экструзии. Внешний спиралевидный каркас из PCL изготавливали на оригинальной установке, состоящей из каретки с экструдером и вращающегося вала, при температуре подачи волокна - 160°C.

Была проведена оценка упруго-деформативных свойств изготовленных графтов по относительному удлинению до начала разрушения образца (%) и модулю Юнга (МПа).

Для оценки реакции окружающих тканей и поведения обмоточной спирали в условиях долгосрочной имплантации биodeградируемые сосудистые графты диаметром 4 мм длиной 40 мм с внешней обмоткой PCL-нитью были имплантированы в сонную артерию овец (n=5) сроком на 12 месяцев.

Спустя 12 месяцев сосудистые графты с армирующим покрытием были эксплантированы и подвергнуты гистологическому исследованию с окраской фиксированных образцов по гематоксилин-эозином, по Ван-гизон, орсеином и ализариновым красным С.

Помимо этого, структуру поверхности графтов с армирующим каркасом до и после имплантации изучали методом сканирующей электронной микроскопии.

Результаты. При выбранном режиме экструзии получали PCL нить толщиной 380-400 мкм, шаг спирали армирующего каркаса составил 1 мм, толщина стенки биodeградируемого сосудистого графта составила 475 мкм. В процессе наматывания нити PCL, подаваемой через экструдер при температуре 160 °С, выявлено ее спекание с отдельными нитями, составляющими основу трубчатого каркаса PNBV/PCL и расположенными под PCL нитью. Нарушения целостности стенки каркаса в других зонах отсутствовало. Исследование модифицированных протезов методом СЭМ показало, что при выбранных режимах изготовления трубчатого каркаса PNBV/PCL/GFmix формировались полноценные волокна полимера, при этом введение дифференцировочных факторов в структуру полимерного волокна не ухудшало качества получаемого волокна.

Сплавление армирующей спирали с графтом не внесло существенных изменений в прочностные и упруго-деформативные свойства (таблица 1).

Таблица 1

Механические свойства полимерных графтом PNBV/PCL/GFmix с армирующим каркасом из PCL и без него

Направление прикладываемой нагрузки	Продольное (Вдоль графта)		Поперечное (Поперек графта)	
	Графт	Графт/каркас	Графт	Графт/каркас
Сила, приложенная к образцу до начала разрушения, Н	4,34 (3,63-8,25)	5,3 (4,47-7,82)	3,33 (1,45-4,41)	9,96 (8,54-14,3)*
Относительное удлинение, %	129,83 (69,57-140,77)	119,37 (116,87-135,41)	127,18 (78,6-131,01)	56,77 (45,11-58,78)*
Модуль Юнга, Мпа	3,1 (2,31-3,41)	2,17 (1,93-2,45)	2,03 (1,7-2,43)	6,55 (5,02-6,84)*
Внешний диаметр сосуда/Толщина образца, мм	4,6 (4,54-4,89)	5,0 (5,0-5,22)*	0,66 (0,34-0,83)	0,92 (0,9-1,32)
Площадь исследуемого образца, мм ²	4,05 (3,62-6,21)	7,07 (7,07-8,83)*	3,3 (1,7-4,15)	4,6 (4,5-6,6)*

* - $p < 0,05$ между значениями образцов с каркасом и без каркаса в одном направлении

По результатам гистологического исследования эксплантированных образцов графтов биодegradация основного трубчатого каркаса не сопровождалась развитием хронического воспаления. Армирующая нить по-прежнему интимно прилежала к каркасу без существенной биорезорбции, поэтому в силу большой толщины при приготовлении гистологических срезов полимер выкрашивался из зоны своей локации. Ткани вокруг располагавшейся нити содержали хорошо развитую, но, вместе с тем, тонкую соединительнотканную капсулу. Эластин и отложения кальция в зоне прохождения нити не выявлены.

Заключение. В результате проведенных исследований было показано, что вайка армирующей PCL нити происходила путем сцепления с отдельными поверхностными полимерными нитями, составляющими основной трубчатый каркас. Формирование армирующего каркаса из нити PCL не приводило к нарушению целостности биодegradируемого трубчатого каркаса из PNBV/PCL. Выбранный температурный режим спекания 160 °C позволил надежно соединить нить PCL с наружной поверхностью трубчатого каркаса PNBV/PCL/GFmix без повреждения зон, свободных от армирующего покрытия.

Механические свойства сосудистого протеза с армирующим каркасом повышались в поперечном направлении, что закономерно вследствие спиралевидного расположения обмоточной нити на поверхности сосудистого графта. По истечении 12 месяцев имплантации целостность конструкции сохранялась, существенной резорбции каркаса не выявлено, а в тканях, окружавших нити каркаса, отсутствовало воспаление и кальцификация.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fisher M.B., Mauck R.L. Tissue engineering and regenerative medicine: recent innovations and the transition to translation // *Tissue Eng Part B Rev.* – 2013. – Vol. 19, №1. – P. 1 – 13.
2. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Mironov A.V. et al. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules // *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* – 2018. – Vol. 7, №2. – P. 25-36.
3. Spadaccio C., Nappi F., Marco F. De. et al. Preliminary in vivo evaluation of a hybrid armored vascular graft combining electrospinning and additive manufacturing techniques // *A Drug Target Insights.* – 2016. – Vol. 10, №1. – P. 1-7.
4. Li G., Liu J., Zheng Z. et al. Structural Mimetic Silk Fiber Reinforced Composite Scaffolds Using Multi Angle Fibers // *Macromolecular bioscience.* – 2015. – Vol. 15, №8. – P. 1125-1133.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ (*ARONIA MELANOCARPA*) НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС С СОПУТСТВУЮЩИМ ИНДУЦИРОВАННЫМ АНЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

А.А. Кривоченко², О.Ю. Рыбалкина^{1,3}, Е.П. Федорова¹

Научный руководитель: доцент, к.б.н О.Ю. Рыбалкина^{1,3}

¹НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 3, 634028

²Национальный исследовательский Томский государственный университет

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

³Сибирский Государственный Медицинский Университет Минздрава

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

E-mail: anatoliyandreevich1997@gmail.com

STUDY OF THE EFFECT OF ARONIA MELANOCARPA FRUIT EXTRACT ON THE EFFECTIVENESS OF CHEMOTHERAPY IN MICE WITH LEWIS LUNG CARCINOMA WITH CONCOMITANT INDUCED ANEMIC SYNDROME

A.A. Krivochenko², O.Y. Rybalkina^{1,3}, E.P. Fedorova¹

Scientific Supervisor: PhD O.Y. Rybalkina^{1,3}

¹Goldberg research institute of pharmacology and regenerative medicine Tomsk NRMC,

Russia, Tomsk, Lenina str., 3, 634028

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

³Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moskovsky trakt, 6, 634050

E-mail: anatoliyandreevich1997@gmail.com

Abstract. *The paper presents the results of a study of the effect of chokeberry fruit extract (*Aronia melanocarpa*) on the effectiveness of cytostatic therapy in mice with Lewis lung carcinoma (LLC) with concomitant anemic syndrome. It has been shown that the administration of a plant extract does not affect the effectiveness of the antimetastatic and antitumor effects of doxorubicin. The inhibition of the erythroid germ of hematopoiesis was detected using cytostatic and its more rapid recovery when the aronia chokeberry fruit extract was included in chemotherapy.*

Введение. Онкологические заболевания занимают одно из ведущих мест среди причин потери трудоспособности и смертности людей в России [1]. Известно, что химиотерапия при лечении злокачественных новообразований часто сопровождается гематологической токсичностью, в частности, приводит к развитию анемического синдрома. Анемический синдром – состояние, характеризующееся снижением содержания в крови эритроцитов, гемоглобина и гематокрита. Одним из цитостатических препаратов, угнетающих эритроидной росток кроветворения, является доксорубин, который обладает высокой противоопухолевой активностью, а также оказывает иммуносупрессивное и кардиотоксическое действие [2]. Таким образом, поиск новых препаратов, снижающих побочные действия химиотерапии и

возможно приводящих к повышению ее эффективности, является важной задачей современной онкофармакологии. Большое внимание уделяется препаратам растительного происхождения, которые имеют широкий спектр фармакологической активности и не обладают токсическим действием [3]. В настоящее время особый интерес представляют антоцианосодержащие растения, в частности, арония черноплодная (*Aronia melanocarpa*). Ягоды аронии черноплодной обладают гипотензивным, кровоостанавливающим, противовоспалительным, спазмолитическим действием; они влияют на процесс кроветворения и способствуют укреплению стенок капилляров, уменьшая их ломкость и проницаемость. В ранее проведенных экспериментах отмечено повышение противометастатического действия циклофосфана у мышей с LLC с помощью антоцианосодержащих растительных экстрактов [4]. Это явилось основанием для исследования действия антоцианосодержащего экстракта, выделенного из плодов аронии черноплодной, на эффективность химиотерапии и состояние эритроидного ростка кроветворения, угнетенного цитостатиком – доксорубицином,

Экспериментальная часть. Эксперимент выполнен на 110 мышах-самках линии C57Bl/6 (массой 22–25 г). Трансплантацию LLC проводили гомогенатом опухолевой ткани по 1×10^6 опухолевых клеток в объеме 0,1 мл стерильного физиологического раствора в мышцу левой задней лапы животного-реципиента. В исследованиях использовали доксорубицин под торговым названием Адрибластин быстрорастворимый, выпускаемый промышленностью (Phzer, США). Согласно прилагаемой инструкции, препарат растворяли стерильным физиологическим раствором из ампул заводской фасовки и вводили внутривнутрибрюшинно животным с LLC на 10 сут после перевивки опухоли в дозе 6 мг/кг. Экстракт плодов аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*) был получен на кафедре фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ. Экстракт деалкоголизировали на водяной бане, доводили до прежнего объема и производили курсовое введение мышам с опухолью внутривнутрибрюшинно в дозе 5 мл/кг ежедневно в течение 9 сут, начиная через 24 часа после инъекции доксорубицина. На 12, 15, 17, 20 сут после трансплантации LLC определяли объем первичного опухолевого узла, показатели периферической крови (общее количество эритроцитов, содержание гемоглобина и уровень гематокрита). Забой животных осуществляли на 20 сут. Производили ревизию внутренних органов, выделение первичного опухолевого узла, а также подсчет количества и площади метастазов в легких, определяли частоту метастазирования. Эффективность проведенного лечения оценивали по противоопухолевому и противометастатическому действию препаратов [5]. Оценку корректирующего действия растительного экстракта в отношении эритроидного ростка кроветворения, угнетенного доксорубицином, проводили согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012) [6]. Достоверность различий независимых выборок оценивалась с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Достоверность различий между качественными признаками проверялась при помощи точного теста Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$ [7].

Результаты. В ходе эксперимента было показано, что использование доксорубицина оказало влияние преимущественно на развитие процесса метастазирования. Показано, что при введении доксорубицина внутривнутрибрюшинно в дозе 6 мг/кг наблюдалось достоверное снижение количества и площади метастазов в легких в 2,0 ($p < 0,05$) и в 5,0 раз ($p < 0,01$), соответственно, по сравнению с показателями в контрольной группе нелеченых животных. На 12 сут после трансплантации LLC, при

оценке противоопухолевой активности, было выявлено снижение объема первичного опухолевого узла в 1,7 раза ($p < 0,01$) у животных, которым вводили цитостатик.

При включении в схему химиотерапии экстракта плодов аронии черноплодной в дозе 5 мг/кг эффективность противоопухолевого и противометастатического действия доксорубицина не отличалась от таковой в группе мышей, получавших только цитостатический препарат.

При оценки показателей периферической крови на 3 и 5 сут наблюдали угнетение эритроидного роста кроветворения у животных с опухолью, получавших однократно доксорубицин: наблюдалось достоверное снижение количества эритроцитов в 1,4 и в 1,2 раза, соответственно, по сравнению с показателями в контрольной группе. При этом уровень гемоглобина и гематокрита на 3 сут достоверно снизился.

Введение экстракта плодов аронии черноплодной приводило к восстановлению эритроидного роста кроветворения. На 3, 5 и 10 сут наблюдалось достоверное увеличение количества эритроцитов в периферической крови животных с опухолью, получавших растительный экстракт совместно с доксорубицином, при этом показатели гемоглобина и гематокрита не изменялись.

Заключение. Экстракт плодов аронии черноплодной не изменяет противоопухолевую и антиметастатическую активность доксорубицина у мышей с карциномой легких Льюис, однако обладает защитным действием в отношении эритроидного роста кроветворения, угнетенного цитостатиком.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (Заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петрова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. – 250 с.
2. Богущ Т.А. Современные подходы к повышению эффективности противоопухолевой терапии путем индивидуальной оптимизации лечения и избирательного снижения побочных токсических проявлений цитостатиков // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – Т.45., № 1. – С. 32-38.
3. Корепанов С.В., Опенко Т.Г. Применение лекарственных растений с иммуномодулирующими свойствами в онкологии // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11., № 4. – С. 15–19.
4. Исайкина Н.В., Калинин Г.И., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Рыбалкина О.Ю., Ульрих А.В., Федорова Е.П., Шилова А.Б. Плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) как источник средства для повышения эффективности химиотерапии опухолей // Химия растительного сырья. – 2017. – № 4. – С. 165-173.
5. Софьина З.П. и др. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. – М.: Медицина. 1980. – 296 с.
6. Миронов А.Н., Бутанян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
7. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика. Учеб. пособие для вузов. – М.: Высшая школа, 2003. – 479 с.

**РОЛЬ АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ В РЕАЛИЗАЦИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО
ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕРДЦА В МОДЕЛИ СИНДРОМА ТАКОТСУБО**

Б.К. Курбатов, А.П. Никифоров

Научный руководитель: профессор, д.м.н. Л.Н. Маслов

Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, НИИ кардиологии,

Россия, г. Томск, ул. Киевская, д. 111А, 634012

E-mail: bobersanker@gmail.com

**ROLE OF ADRENEACTIVITY IN THE IMPLEMENTATION OF STRESS-INDUCED HEART
INJURY IN THE TAKOTSUBO SYNDROME MODEL**

B.K. Kurbatov A.P. Nikiforov

Scientific Supervisor: Prof., Dr. L.N. Maslov

Tomsk National Research Medical Center of the RAS, Cardiology Research Institute, Russia, Tomsk,

Kyevskaya st., 111A, 634012

E-mail: bobersanker@gmail.com

Abstract. *Stress-induced heart injury (SIHI) was reproduced by immobilizing rats on the back for 24 hours. SIHI was assessed by the accumulation of ^{99m}Tc -pyrophosphate in the heart. In this study, it was shown that the use of the sympatholytic guanethidine has a cardioprotective effect. It was shown that the concentration of adrenaline and norepinephrine in the blood serum is observed at 2 hours of immobilization. It was also shown that the degree of MIBG accumulation does not change at 2 hours of immobilization but increases at 24 hours due to a decrease in the content of catecholamines in the depot. A significant increase in CK-MB activity was shown only with 24-hour immobilization. Thus, this study demonstrated that the implementation of SIHI is associated with an increase in sympathetic activity and is realized later than the maximum values of catecholamines.*

Введение. Участие стресса в повреждении сердца заподозрили еще в 40-х годах. Так, в 1946 г Moritz и Zamcheck сообщили о повышении частоты внезапной сердечной смерти у солдат во время второй мировой войны [1]. Кроме того, Cannon W.B. описал случаи внезапной сердечной смерти у людей с «мистическим мышлением» при «проклятиях» [2]. Теория возникновения стресс-реакции получила развитие в работах Г. Селье [3]. Но лишь в 1974 г. G. Johansson и соавт. [4] впервые подтвердили участие стресса в повреждении сердца в экспериментальной модели. Они обнаружили, что фармакологическая иммобилизация свиней приводит к повреждению миокарда и явным изменениям на ЭКГ. Интерес к стресс-индуцированному повреждению миокарда возобновился после обнаружения схожего состояния у человека Н. Sato и соавт. [5] Авторы назвали данное состояния кардиомиопатия такотсубо, ввиду того что ремоделирование левого желудочка сердца свойственное данному синдрому схоже с японской ловушкой для осьминогов. Особенность данного синдрома заключается в том, что у большинства пациентов в анамнезе наблюдался сильный эмоциональный или физический стресс. Данный синдром достаточно длительное время был малозаметен в клинической практике. Клиническая картина схожа с острым инфарктом миокарда и дифференциальная диагностика на данный момент затруднена. Стоит отметить, что смертность среди пациентов с синдромом такотсубо сопоставима с

острым миокардом инфаркта [6]. Лечение синдрома такотсубо остается малоэффективной ввиду того, что на данный момент отсутствует однозначное понимание патофизиологических процессов. Основной теорией развития данного синдрома является избыточная активация симпатической системы, сопровождающиеся высокими концентрациями катехоламинов. На данный момент остается не ясным роль адренореактивности сердца в реализации данного синдрома.

Методы исследования. Стресс-индуцированное повреждение миокарда моделировали с помощью 24-часовой иммобилизацией самок крыс линии «вистар» в положении на спине. Оценка степени повреждения происходила по степени аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ). Для оценки содержания катехоламинов в сердце использовался радиофармпрепарат 123I-метайодбензилгуанидин (МИБГ). Включение обоих радиофармпрепаратов в ткань миокарда рассчитают в процентах от введенной дозы на 1 г ткани (срм/g %). Катехоламины измерялись в сыворотке крови с помощью набора CatCombi (IBL, США). Активность КФК-МВ в сыворотке крови измеряли с помощью набора «СК-МВ» REF153 (ANALYTICON BIOTECHNOLOGIES AG, Германия). Для фармакологической денервации использовали ганглиоблокатор гексаметония хлорид, который вводили пятикратно в дозе 20 мг/кг с интервалом 4 ч 48 мин. Гуанетидин (50 мг/кг) вводили подкожно раз в день в течение трёх дней, последнюю инъекцию делали за 24 ч до иммобилизации.

Результаты. В ходе данного исследования было установлено, что симпатэктомия с помощью гуанетидина уменьшило степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 36%. Ганглиоблокатор гексаметония хлорид не оказал значимого эффекта на СИПС. Как показано на рисунке 1 концентрация адреналина и норадреналина в крови принимает максимальное значение при 2-часовой иммобилизации и в дальнейшем происходит снижение вплоть до начального уровня. Схожая картина наблюдается и в степени аккумуляции МИБГ в сердце крыс. Так при 2-часовой иммобилизации аккумуляция радиофармпрепарата остается на уровне интактных животных ($3,22 \pm 0,17$ vs $3,6 \pm 0,3$, $P > 0,05$), что указывает на высокое содержание норадреналина в сердце. При 24-часовой иммобилизации происходит увеличение аккумуляции ($3,22 \pm 0,17$ vs $5,05 \pm 0,27$ СРМ/g %, $P < 0,05$), что указывает нам о снижении содержания норадреналина в сердце. Значимое повышение содержания КФК-МВ происходит только при 24-часовой иммобилизации ($119,9 \pm 16,4$ vs $184,3 \pm 25,5$ ед/л, $P < 0,05$), при 2-часовой иммобилизации нет значимых изменений ($119,9 \pm 16,4$ vs $130,3 \pm 21,3$ ед/л, $P < 0,05$) по сравнению с интактными животными.

Таблица 1

Степень аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата при иммобилизационном стрессе и введение фармпрепаратов

Группа/препарат	Удельное включение ^{99m}Tc , СРМ/г (% от введенной дозы)
Интактные, n=12	$0,0503 \pm 0,0045$
Стресс 24 ч, n=12	$0,1253 \pm 0,0163\#$
Безводный контроль, n=12	$0,053 \pm 0,0046$
Стресс 24 ч+ симпатолитик гуанетидин, n=12	$0,0754 \pm 0,001\#*$
Стресс 24 ч + гексаметония хлорид, n=12	$0,1003 \pm 0,0008$

Примечание: *- уровень значимости к стрессированным животным, #- уровень значимости к интактным животным.

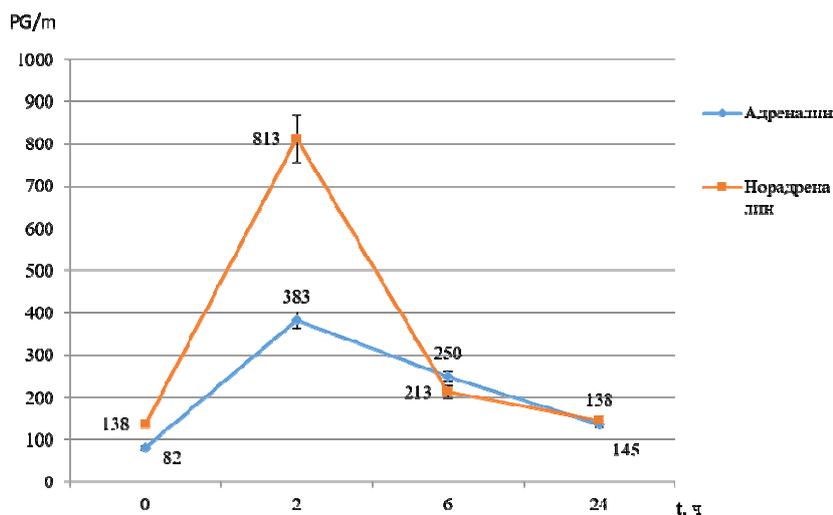


Рис. 1. Содержание адреналина и норадреналина в сыворотке крови у крыс при иммобилизации

Заключение. Таким образом, в ходе нашего исследования было показано, что фармакологическая симпатэктомия оказывает кардиопротекторный эффект при СИПС, что указывает на участие симпатической нервной системы в реализации повреждения сердца при стрессе. Хотя самые высокие концентрации катехоламинов в сыворотке крови наблюдаются в 2 часа, они не смогли снизить степень аккумуляции МИБГ в сердце, таким образом, можно предположить, о том, что повышение концентрации норадреналина в сердце происходит в более поздние периоды, а затем происходит истощение эндогенного депо норадреналина. Повышение КФК-МВ при 24-часовой иммобилизации указывает, что повреждение с нарушением целостности мембран происходит отложено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Moritz A.R. Zamcheck n. Sudden and unexpected deaths of young soldiers; diseases responsible for such deaths during World War II // Arch. Pathol. – 1946. – Vol. 42., № 5. – P. 459–494.
2. Cannon W.B. ‘Voodoo’ Death // Am. Anthropol. – 1942. – Vol. 44., № 2. – P. 169–181.
3. Очерки об адаптационном синдроме / под ред. МГ Дурмишьяна. – М. Медгиз, 1960. – С. 254.
4. Johansson G, Jonsson L, Lannek N, Blomgren L, et al. Severe stress-cardiopathy in pigs. // Am. Heart J. – 1974. – Vol. 87., № 4. – P. 451–457.
5. Sato H, Tateishi H, Uchida T. Takotsubo-type cardiomyopathy due to multivessel spasm. - Clinical Aspect of Myocardial Injury: From Ischemia to Heart Failure, 1990 – P. 56–64.
6. Stiermaier T, Möller C, Graf T, Eitel C, et al. Prognostic Usefulness of the Ballooning Pattern in Patients With Takotsubo Cardiomyopathy // Am. J. Cardiol – 2016. – Vol. 118., № 11. – P. 1737–1741.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ
ИЗОТОПНЫХ ЭФФЕКТОВ МАГНИЯ В МОРФОЛОГИИ БАКТЕРИЙ *E. COLI*

У.Г. Летуа

Научный руководитель: д.ф.-м.н. В.Л. Бердинский

Оренбургский государственный университет,

Россия, г. Оренбург, пр. Победы, 13, 460018

E-mail: shevulyana@yandex.ru

USING ATOMIC FORCE MICROSCOPY TO DETECT ISOTOPE MAGNESIUM EFFECTS IN
THE *E. COLI* CELLS MORPHOLOGY

U.G.Letuta

Scientific Supervisor: Dr. V. L. Berdinskiy

Orenburg State University, Russia, Orenburg, Pobedy str., 13, 460018

E-mail: shevulyana@yandex.ru

Abstract. *In this paper, the morphology of Escherichia coli bacteria grown in the presence of magnesium isotopes (magnetic ^{25}Mg , non-magnetic $^{24,26}\text{Mg}$ and natural Mg) and antibiotics of various groups were studied. Atomic force microscopy (AFM) was used as the main method. When bacteria were cultured in the presence of different groups of antibiotics, the following morphological changes were detected: filamentation, cell lysis, cell adhesion, destruction of the peptidoglycan layer, and the formation of "grooves" or pores. For E. coli bacteria cultured on a medium with tobramycin and lincomycin, a magnetic magnesium isotope effect ^{25}Mg in bacteria morphology was detected, which was manifested as a change in the roughness of bacterial cells. Both of these antibacterial drugs act on the same intracellular system – protein synthesis. It has also been observed that the elongation of bacterial cells when exposed to levofloxacin depends on the type of magnesium isotope in the nutrient medium. Thus, protein and DNA synthesis in a bacterial cell is spin-sensitive. The AFM method can be used to study morphological changes in bacteria exposed to antibiotics, as well as to detect the magnetic-isotope effects of magnesium and other chemical elements.*

Введение. Магнитно-изотопные эффекты (МИЭ) магния ^{25}Mg , кальция ^{43}Ca , цинка ^{67}Zn , обладающих ядерным спином и, соответственно, магнитным моментом были обнаружены в ферментативном синтезе АТФ и ДНК [1]. В бактериях *E. coli* магнитно-изотопные эффекты были обнаружены для магния ^{25}Mg и цинка ^{67}Zn [2, 3]. Внутриклеточное обогащение магнитным изотопом ^{25}Mg ускоряет рост *E. coli*, увеличивает жизнеспособность клеточной культуры, а также влияет на резистентность бактерий к некоторым антибиотикам [4].

В бактериальных клетках магний участвует в работе 300 ферментов. Наличие магнитного момента у ядра изотопа способно влиять на ход ферментативной реакции, идущей с переносом одного или нескольких электронов [1]. При этом изменяется не только выход продукта, но, как следствие, и физиологические свойства организмов, например, образование биоплёнок бактериями или их чувствительность к антимикробным препаратам. В данной работе исследовались особенности морфологии бактерий *Escherichia coli*, выращенных в присутствии изотопов магния (магнитного ^{25}Mg ,

немагнитных $^{24,26}\text{Mg}$ и природного Mg) и антибиотиков различных групп. Такая постановка задачи позволяла влиять на различные внутриклеточные системы – мишени действия антибиотиков, – и выявлять их чувствительность к наличию ядерного магнитного момента у изотопа магния посредством визуализации бактериальных клеток. В качестве основного метода использовалась атомно-силовая микроскопия (АСМ), позволяющая изучать ультраструктуру бактерий в их прижизненном состоянии.

Экспериментальная часть. Для проведения эксперимента использовали культуру бактерий *Escherichia coli* K12 TG1. Инкубировали бактерии в среде M9, содержащей изотопы магния $^{24,25,26}\text{Mg}$ в виде сульфатов, концентрация 2,2 ммоль/л [2]. Контролем служила среда M9 с природным магнием Mg. Антибиотики - представители ансамицинов, хинолонов, пенициллинов, аминогликозидов, линкозамидов, цефалоспоринов, - добавляли в среду в концентрациях, в два раза меньших минимальных ингибирующих (МИК), которые подбирали с помощью метода серийных разведений.

Бактерии инкубировали при температуре 37° С 11 ч. Образцы для исследования морфологии методом АСМ готовили многократной отмыжкой от среды, после чего 2-3 мкл суспензии с бактериями помещали на поверхность подложки из металлической шайбы и скола слюды размером около 8x8 мм. Сканирование образцов производили на сканирующем зондовом микроскопе СММ-2000 в атомно-силовом режиме в воздушной среде. Анализировали морфометрические показатели бактерий (длина, ширина, высота), а также профиль шероховатости. Для статистической обработки экспериментальных данных и построения диаграмм использовали прикладной программный пакет Origin (Origin 8, OriginLab Corp.).

Результаты. Получены и проанализированы АСМ-изображения бактериальных клеток *E. coli*, культивируемых на среде M9 с изотопами магния и антибиотиками. Также были проанализированы АСМ-изображения бактерий, не подвергавшихся действию антибиотиков – не было обнаружено морфологических изменений; а морфометрические показатели контрольных образцов отличаются незначительно для магнитного и немагнитных изотопов магния. При культивировании бактерий в присутствии антибиотиков различных групп были обнаружены следующие типы морфологических изменений: филаментация, клеточный лизис, образование клеточных агломератов, разрушение пептидогликанового слоя, образование «желобков» или пор.

Воздействие тобрамицина – представителя аминогликозидов, – приводило к вакуолизации клеток, а также их слипанию, что может быть следствием механизма действия тобрамицина, влияющего на синтез белка. Характерным морфологическим признаком бактерий, инкубированных на среде с магнитным ^{25}Mg , было образование «желобков» (рис. 1). Статистический анализ профиля шероховатости в сравнении с немагнитными изотопами $^{24,26}\text{Mg}$ подтверждает совместный эффект тобрамицина и магнитного магния в морфологии бактерий *E. coli*.

Изменение шероховатости бактерий, которые инкубировались на среде с магнитным изотопом магния ^{25}Mg , было обнаружено и для линкомицина (линкозамиды). Этот антибиотик так же, как тобрамицин, нарушает процесс белкового синтеза. Таким образом, синтез белка является магнитно-чувствительным или спин-зависимым.



Рис. 1. АСМ-изображение бактерии *E. coli*, культивируемой на среде M9 с тобрамицином и ^{25}Mg

Для антибиотиков, механизм действия которых связан с угнетением синтеза клеточной стенки или ДНК (ампициллин, цефтриаксон, цiproфлоксацин, левофлоксацин) характерно появление удлинённых клеток, в несколько раз превосходящих по размеру нормальные бактерии. При этом совместное действие именно магнитного магния и левофлоксацина (хинолоны) приводит к значительному удлинению клеток по сравнению с немагнитными $^{24,26}\text{Mg}$ изотопами.

Заключение. Для бактерий *E. coli*, культивируемых на среде с тобрамицином (аминогликозиды) и линкомицином (линкозамиды) обнаружен магнитно-изотопный эффект магния ^{25}Mg в морфологии бактерий, который проявляется, в том числе, как изменение шероховатости бактериальных клеток. Оба этих антибактериальных препарата действуют на синтез белка. Следовательно, этот процесс является спин-чувствительным и будет протекать с разной эффективностью для магнитного и немагнитных изотопов магния. Действие антибиотиков, мишенью действия которых является синтез пептидогликана, на бактерии *E. coli* приводит к образованию удлиненных клеток (филаментации). Для представителей хинолонов удлинение бактерий зависит от типа изотопа магния и свидетельствует о магнитной чувствительности синтеза ДНК. Метод АСМ может использоваться для исследования морфологических изменений бактерий, подвергнувшихся действию антибиотиков, а также для регистрации магнитно-изотопных эффектов магния и других химических элементов.

Работа выполнена при финансовой поддержке совета по грантам Президента Российской Федерации, заявка СП-225.2019.4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Buchachenko A.L. Magneto-Biology and Medicine. - New York: Nova Science Publishers, 2014. – 236 p.
2. Letuta U.G., Berdinskiy V.L. Magnetosensitivity of bacteria *E. coli*: Magnetic isotope and magnetic field effects // Bioelectromagnetics. – 2017. - Vol.38., № 8. - P. 581-591.
3. Letuta U.G., Berdinskiy V.L. Biological effects of static magnetic field and zinc isotopes on *E. coli* bacteria // Bioelectromagnetics. – 2019. - Vol.40., № 1. - P. 62-73.
4. Летута У.Г., Веккер А.С., Корнилова Т.А., Грязнов А.А., Чеплаков И.А. Магнитно-изотопное влияние магния ^{25}Mg на резистентность бактерий *E. coli* к антибиотикам // Доклады академии наук. - 2016. – Т. 469., № 4. – С. 501-503.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ МИКРОРНК В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ

К.В. Маннанова, А.А Зарубин

Научный руководитель: к.м.н, н.с. А.В. Марков

НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ

Россия, г. Томск, наб. реки Ушайки 10, 634050

E-mail: camilla.mannanova@gmail.com

POLYMORPHISM OF MICRORNA GENES IN ATHEROSCLEROTIC PLAQUES

K.V. Mannanova, A.A. Zarubin

Scientific Supervisor: PhD A.V. Markov

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

E-mail: camilla.mannanova@gmail.com

***Abstract.** In the present study, we employed exome and microRNA sequencing to investigate single nucleotide polymorphisms (SNP) and microRNA expression in atherosclerotic plaques. We identified 7 microRNA genes associated with atherosclerosis containing 18 SNPs. Expression of mature microRNAs was detected for 2 genes (MIR146A, MIR27A).*

Введение. Несмотря на огромный прогресс в диагностике и лечении, сердечно-сосудистые заболевания остаются одной из ведущих причин смерти в странах с низким и средним уровнем дохода [1]. Главной причиной развития сосудистых заболеваний является атеросклеротическое поражение сосудов. На сегодняшний день значительно улучшилось понимание патофизиологических процессов, лежащих в основе атеросклероза. Открыты ключевые сигнальные пути и молекулы, участвующие в инициации и прогрессировании атеросклеротических бляшек [2]. Среди таких молекул особый интерес представляют микроРНК – малые некодирующие РНК. Показано, что они вовлечены во многие биологические процессы на разных стадиях развития атеросклероза [3, 4]. Широко описаны полиморфные варианты, встречающиеся в генах-мишенях микроРНК, и их связь с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Однако, вариации генов, кодирующих области (при/пре-) микроРНК, изучены не столь подробно [5]. Вариации в генах микроРНК могут изменять профиль экспрессии как самих микроРНК, так и их генов-мишеней, что отражается на функционировании клетки в целом. Изучение полиморфных вариантов в генах микроРНК, участвующих в патогенезе атеросклероза, поможет выявить новые молекулярных механизмы развития заболевания, а также возможные маркёры и мишени для таргетной терапии.

Цель исследования: Охарактеризовать спектр генетических вариантов в атеросклеротических бляшках.

Экспериментальная часть. Материалом для исследования послужили образцы пораженных атеросклерозом сонных артерий, полученные в ходе каротидной эндартерэктомии от 7 пациентов. Для оценки уровня экспрессии микроРНК была приготовлена кДНК-библиотека малых РНК, с помощью набора NEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina (New England Biolabs). Секвенирование библиотеки выполнено на приборе HiSeq1500 (Illumina). Анализ данных секвенирования проведен с использованием пайплайна miARma-Seq. Полученные прочтения были

выровнены на сборку генома человека GRCh38 с помощью программного обеспечения Burrows–Wheeler Alignment (BWA) Tool и ограничены набором известных последовательностей микроРНК (согласно базе данных miRBase v22; <http://www.mirbase.org/>). Оценка уровня экспрессии микроРНК проводилась с использованием пакета "edgeR" в программной среде R. Библиотеки для экзомного секвенирования приготовлены с использованием SureSelect Clinical Research Exome V1 (Agilent). Анализ однонуклеотидных полиморфизмов проведен с использованием алгоритма Genome Analysis Toolkit 4 для анализа однонуклеотидных полиморфизмов и коротких инсерций и делеций (<https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us>).

Результаты. Данные микроРНК секвенирования состояли в среднем из 9,6 млн одноконцевых прочтений, длиной 50 пар нуклеотидов. С использованием алгоритмов Genome Analysis Toolkit 4 был проведен поиск однонуклеотидных полиморфизмов. Глубина покрытия в генах микроРНК оказалась недостаточной для достоверной идентификации полиморфных вариантов в них. Мы использовали данные экзомного секвенирования с более глубоким покрытием, состоящие в среднем из 56,5 млн парно-концевых прочтений длиной 150 пар оснований на образец. Из данных экзомного секвенирования было получено 264 полиморфных варианта, приходящихся на 183 гена микроРНК. С использованием базы данных Human microRNA Disease Database v3.2 было отобрано 7 микроРНК (miR-663b, miR-663a, miR-378h, miR-146a, miR-1908, miR-27a, miR-320e), ассоциированных с атеросклерозом. Список полиморфных вариантов, приходящийся на гены этих микроРНК представлен в таблице 1.

Таблица 1

Идентифицированные полиморфные варианты в генах микроРНК, ассоциированных с атеросклерозом

Ген микроРНК	Полиморфные варианты
<i>MIR663B</i>	rs780504024, rs773288520, rs778498837, rs746678615, rs545157048, rs75245503, rs74853538, rs201793747, rs78327226, rs78867621, rs111708138
<i>MIR663A</i>	rs28670321, rs7266947
<i>MIR378H</i>	rs702742
<i>MIR146A</i>	rs2910164
<i>MIR1908</i>	rs174561
<i>MIR27A</i>	rs895819
<i>MIR320E</i>	rs10423365

Согласно полученным данным микроРНК секвенирования, для двух (*MIR146A*, *MIR27A*) из 7 кандидатных генов была обнаружена экспрессия зрелых микроРНК. При этом считалось, что гены экспрессируются, если значение логарифма числа прочтений микроРНК относительно миллиона прочтений в образце превышало 0,5. Известно, что rs2910164, расположенный в гене *MIR146A*, связан с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, но тем не менее, исследования в разных популяциях человека носят противоречивый характер. Показано, что наличие данного полиморфизма снижает риск сердечно-сосудистых заболеваний у китайцев, но повышает тот же риск в корейской и индийской популяции [6]. Большинство работ по исследованию ассоциации полиморфного варианта rs2910164 с атеросклерозом проведено среди представителей населения Китая. Для европейцев показано, что rs2910164 был связан с риском развития сердечно-сосудистых осложнений [7]. Определено, что

полиморфизм rs895819 гена *MIR27A* в значительной степени связан с риском развития диабета 2 типа и различных видов рака [8, 9]. Для сердечно-сосудистых заболеваний показана связь между rs895819 и сниженным риском инфаркта миокарда в ханьской популяции Китая [10]. Необходимы дальнейшие исследования в различных этнических группах, чтобы подтвердить действительную значимость найденных ассоциаций

Заключение. При изучении ДНК и микроРНК из атеросклеротических бляшек сонных артерий идентифицировано 7 генов микроРНК, ассоциированных с атеросклерозом, содержащих 18 полиморфных вариантов. Для 2-х генов обнаружена экспрессия зрелой микроРНК (*MIR146A*, *MIR27A*) и рассмотрена ассоциация полиморфных вариантов в этих генах с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Timmis A. [и др.]. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019 // European heart journal. – 2020. – № 1 (41). – P. 12–85.
2. Morris K.V., Mattick J.S. The rise of regulatory RNA // Nature Reviews Genetics. – 2014. – № 6 (15). – P. 423–437.
3. Feinberg M.W., Moore K.J. MicroRNA Regulation of Atherosclerosis // Circulation Research. – 2016. – № 4 (118). – P. 703–720.
4. Libby P., Bornfeldt K.E., Tall A.R. Atherosclerosis: Successes, Surprises, and Future Challenges // Circulation Research. – 2016. – № 4 (118). – P. 531–534.
5. Calore M., Windt L.J. De, Rampazzo A. Genetics meets epigenetics: Genetic variants that modulate noncoding RNA in cardiovascular diseases // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2015. – (89). – P. 27–34.
6. He, Y. [и др.]. Association of miR-146a rs2910164 polymorphism with cardio-cerebrovascular diseases: A systematic review and meta-analysis. // Gene. – 2015. – № 565(2). – P. 171–179.
7. Bastami M. [и др.]. MiRNA-Related Polymorphisms in miR-146a and TCF21 Are Associated with Increased Susceptibility to Coronary Artery Disease in an Iranian Population // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. – 2016. – № 5 (20). – P. 241–248.
8. Bian Q. [и др.]. Association between pre-miR-27a functional polymorphism and risk of colorectal cancer in north Chinese Han population // OncoTargets and Therapy. – 2015. – (8). – P. 3003–3007.
9. Wang T.T. [и др.]. Affection of single-nucleotide polymorphisms in miR-27a, miR-124a, and miR-146a on susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Chinese han people // Chinese Medical Journal. – 2015. – № 4 – (128). – P. 533–539.
10. Cai M.Y. [и др.]. The association between pre-miR-27a rs895819 polymorphism and myocardial infarction risk in a Chinese Han population // Lipids in Health and Disease. – 2018. – № 1 (17). – P. 1–8.

**ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРА ИНДУЦИРУЕМОЙ СИНТАЗЫ
ОКСИДА АЗОТА ПРОИЗВОДНОГО АМИНОГУАНИДИНА ПРИ МОДЕЛИ
НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ЯЗВЕННОГО КОЛИТА**

В.С. Мотов

Научный руководитель: профессор, д.м.н., заслуженный работник ВШ РФ А.И. Венгеровский

Сибирский государственный медицинский университет

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

Email: slammingpinguine@gmail.com

**ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF AN INHIBITOR OF INDUCIBLE NO SYNTHASE,
AN AMINOGUANIDINE DERIVATIVE, IN A MODEL OF ULCERATIVE COLITIS**

V.S. Motov

Scientific Supervisor: Prof., Dr. A.I. Vengerovskii

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moskovskiy Trakt str., 2, 634050

Email: slammingpinguine@gmail.com

Abstract. *Ulcerative colitis is a long-term condition that results in inflammation and ulcers of the colon and rectum. Ulcerative colitis is one of the most serious and unsolved problems in gastroenterology. Inhibition of inducible NO-synthase can prevent intestine ulceration, because of NO key role in this disease. Purpose. Investigate the antiinflammatory effect of an aminoguanidine derivative, an inhibitor of inducible NO-synthase, in a model of ulcerative colitis. Materials and methods. 30 white Sprague Dawley rats was used. Ulcerative colitis was induced by rectal administration of an acetic acid solution. Aminoguanidine derivative was administered at a dose of 50 mg / kg for 4 days, the control group received an equivalent volume of the solvent. A clinical examination and assessment of feed intake were performed. After 4 days, necropsy of animals was performed with examination of the large intestine, intestine ulceration was assessed. In the intestinal homogenate cytokines and iNOS was quantified by ELISA. Results. The number of animals with a reduced amount of fecal matter, a liquid stool, the presence of blood in the stool or bleeding from the anus in the aminoguanidine derivate group is lower than in the control group. The feed intake of animals of the aminoguanidine derivate group is statistically significantly higher than in the control. The degree of intestinal damage, the number of ulcers, concentration of cytokines and iNOS in the aminoguanidine derivate group are statistically significantly lower than in the control group. Conclusion. Aminoguanidine derivate multiple oral administration to rats reduce colonic inflammation in the experimental model of ulcerative colitis.*

Введение. Воспалительное заболевание слизистой оболочки и подслизистого слоя толстого кишечника язвенный колит представляет собой одну из наиболее серьезных и нерешенных проблем современной гастроэнтерологии [1, 2]. В патогенезе язвенного колита участвует многократно повышенный синтез оксида азота (NO) из-за активации его индуцируемой (кальцийнезависимой) синтазы (iNOS) [3]. NO в высокой концентрации способствует образованию язв в кишечнике, увеличивает его проницаемость и нарушает моторику. Можно предположить, что ингибирование iNOS станет потенциальным способом лечения неспецифического язвенного колита.

Цель исследования: исследовать противовоспалительное действие производного аминоксидина – ингибитора индуцируемой NO-синтазы – при модели язвенного колита.

Экспериментальная часть. Эксперименты проведены на 18 аутбредных крысах стока *Sprague Dawley*. Животные были разделены на 3 группы. Крысам ректально вводили 2 мл 3% раствора уксусной кислоты, через 10 с после введения кишечник промывали 5 мл изотонического раствора натрия хлорида. В течение 4 дней один раз в день вводили в желудок производное аминоксидина в дозе 50 мг/кг в 1 мл раствора поливидона-630. Доза вещества соответствовала эффективной терапевтической по данным ранее проведенных исследований. Крысы контрольной группы получали раствор поливидона. Третью группу составляли интактные животные. Через 4 сут проводили клинический осмотр и оценивали потребление корма. Животных умерщвляли в атмосфере углекислого газа. В слизистой оболочке толстого кишечника учитывали количество язв и характеризовали повреждение по балльной шкале, представленной ниже:

- 0 – нет видимых повреждений;
- 1 – локализованное воспаление;
- 2 – выраженное воспаление без язв;
- 3 – воспаление с участком изъязвления менее 1 см;
- 4 – воспаление с 2 и более участками изъязвления менее 2 см;
- 5 – воспаление с 2 и более участками изъязвления более 2 см;
- 6-10 – по 1 пункту за каждый участок изъязвления более 1 см после начальных 2 см.

В гомогенатах кишечника иммуноферментными методами определяли содержание iNOS, фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкинов-1 и -6 (ИЛ-1 и ИЛ-6). Срезы толстого кишечника окрашивали гематоксилином и эозином. Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 8.0. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. У животных с моделью неспецифического язвенного колита, получавших поливидон, уменьшалось количество кала, он имел жидкую консистенцию, содержал кровь и гной. У части животных возникало обильное кишечное кровотечение. Суточное потребление корма сокращалось с $47,9 \pm 5,6$ до $6,0 \pm 1,3$ г/кг. В слизистой оболочке толстого кишечника регистрировалось 51 ± 11 язв, что соответствовало $6,0 \pm 1,0$ баллам по шкале повреждений. Сосуды кишечника были расширены, переполнены кровью, отмечались выраженная складчатость слизистой оболочки, множественные обширные кровоизлияния. Краниальная половина кишечника была полностью покрыта многочисленными язвенными дефектами. По данным гистологического исследования все слои стенки кишечника были некротизированы и инфильтрированы нейтрофилами и лимфоцитами, язвы покрыты фибрином (рисунок 1). В гомогенатах толстого кишечника концентрация iNOS возросла до $20,1 \pm 3,1$ нг/мл, ФНО- α – до $16,3 \pm 2,0$ пг/мл, ИЛ-1 – до $49,3 \pm 11,6$ пг/мл, ИЛ-6 – до $52,1 \pm 14,4$ пг/мл. У крыс интактной группы кишечник был не поврежден (рис. 2). При введении производного аминоксидина количество кала и его консистенция становились такими же, как у интактных животных, кровотечение не отмечалось, крысы съедали $25,8 \pm 7,3$ г/кг корма за сутки, число язв статистически достоверно снижалось до 16 ± 5 ($2,8 \pm 0,4$ балла). Кишечник оставался гиперемированным, с очаговыми кровоизлияниями и одиночными язвенными дефектами на всем протяжении, слизистая оболочка имела выраженную складчатость. В слизистой оболочке отек и лейкоцитарная инфильтрация становились менее

выраженными, сохранялось полнокровие капилляров со стазом, в инфильтрате появлялись эозинофилы (рисунок 3). В результате лечения производным аминокуанидина содержание iNOS достоверно снижалось до $14,6 \pm 2,7$ нг/мл, ФНО- α – до $7,3 \pm 3,7$, ИЛ-1 – до $36,2 \pm 5,4$ пг/мл и ИЛ-6 – до $3,9 \pm 1,3$ пг/мл.



Рис. 1. Фотография кишечника и гистологического препарата кишечника животного с моделью неспецифического язвенного колита, получавшего поливидон

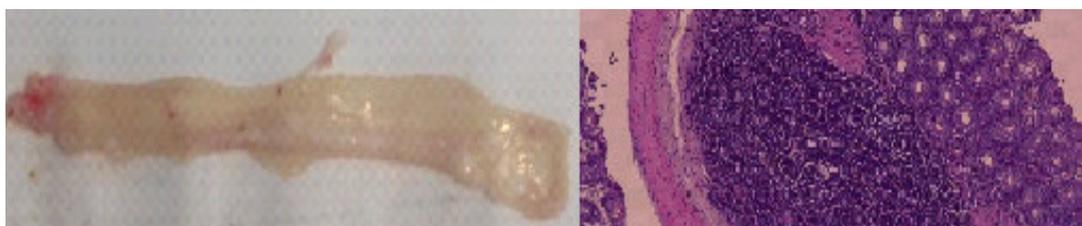


Рис. 2. Фотография кишечника и гистологического препарата кишечника интактного животного

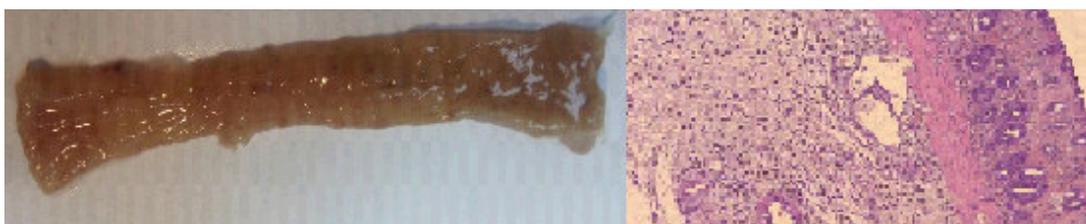


Рис. 3. Фотография кишечника и гистологического препарата кишечника животного с моделью неспецифического язвенного колита, получавшего производное аминокуанидина

Заключение. При модели неспецифического язвенного колита производное аминокуанидина улучшает аппетит животных, восстанавливает перистальтику кишечника, препятствует развитию кишечного кровотечения и образованию язв в толстом кишечнике. Механизм противовоспалительного действия производного аминокуанидина можно объяснить ингибированием iNOS и уменьшением продукции ФНО- α и ИЛ-1 и -6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ватутин Н.Т., Шевелек А.Н., Карапыш В.А., Василенко И.В. Неспецифический язвенный колит // Архив внутренней медицины. – 2015. – Т. 24, № 4. – С. 62–65.
2. Макачук П.А., Цодикова О.М., Бузунова Ю.М., Белоусова Е.А. Некоторые аспекты лечения левостороннего язвенного колита // Альманах клинической медицины. – 2015. – № 40. – С. 82–88.
3. Soufli I., Toumi R., Rafa H., Touil-Boukoffa C. Overview of cytokines and nitric oxide involvement in immuno-pathogenesis of inflammatory bowel diseases // World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther. – 2016. – № 7 Vol. 3. – P. 353–360.

**СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОГЕЛЕЙ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН
ГИДРОХЛОРИДА ПО ОТНОШЕНИЮ К ЭКСТРАКТАМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ**О.С. Очиров¹, Т.А. Туртуева², М.Н. Григорьева¹¹Байкальский институт природопользования СО РАН

Россия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д.6, 670047

²Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова

Россия, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, д. 24а, 670000

E-mail: ochirov.o.s@yandex.ru**SORPTION ACTIVITY OF HYDROGELS OF POLYHEXAMETHYLENE GUANIDINE
HYDROCHLORIDE REGARDING EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS**O.S. Ochirov¹, T.A. Turtueva², M.N. Grigor'eva¹¹Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Russia, Ulan-Ude, Sakhyanovoi str., 6, 670047²Buryat State University named after Dorji Banzarova, Russia, Ulan-Ude, Smolina str., 24a, 670000E-mail: ochirov.o.s@yandex.ru

Abstract. *The study was aimed at obtaining polyhexamethylene guanidine hydrochloride hydrogel compositions with extracts of medicinal plants growing in the Baikal region (*Bergenia crassifolia*, *Calendula officinalis*, *Tussilago farfara*) and evaluating sorption activity with the prospect of subsequent use of the compositions as an external wound healing agent.*

Введение. Терапия повреждений кожных покровов является комплексным мероприятием, требующим тщательного подбора лекарственных средств в зависимости от текущего этапа течения раневого процесса. При создании многокомпонентных лекарственных препаратов наружного применения используются разные подходы. За последнее десятилетие возрос интерес к применению полимерных гидрогелей, способных выступать в качестве носителей лекарственных веществ [1, 2].

Из большого числа гелеобразующих полимеров, можно выделить полимеры гуанидинового ряда, обладающих высокой антимикробной активностью и способностью к комплексообразованию с органическими веществами [3]. Ранее авторами было показано, что гидрогели на основе полигуанидинов проявляют ранозаживляющее действие сопоставимое с препаратом «Левомеколь», что, в целом, открывает возможности применения гидрогелей этого класса полимеров для конструирования лекарственных препаратов с веществами растительного и синтетического происхождения для терапии повреждений кожных покровов [4].

Экспериментальная часть. *Синтез гидрогеля полигексаметиленгуанидин гидрохлорида:* Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГгх) был получен путем поликонденсации в расплаве гуанидин гидрохлорида (ГГХ) и гексаметилендиамина (ГМДА) при T=165°C в течение 3 ч.

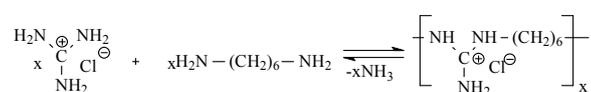


Схема синтеза ПГМГгх

Гидрогель ПГМГгх сшитый формальдегидом (ПГМГгх/ф) был получен путем добавления к раствору полимера ($C=30$ г/дл) 10%-го раствора формальдегида (ГОСТ-1625-89) в пятикратном избытке относительно количества концевых аминогрупп ПГМГгх [3]. Реакция проходила при комнатной температуре в течение одного часа. Очистка гидрогеля от золь-фракции проводилась путем многократного промывания дистиллированной водой на воронке Бюхнера.

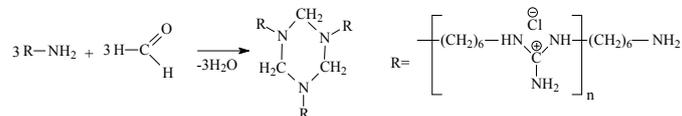


Схема синтеза гидрогеля ПГМГгх/ф

Растительное сырье: В работе использовали корни бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch.), цветки календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) и листья мать-и-мачехи лекарственной (*Tussilago farfara* L.), приобретенные через аптечную сеть.

Приготовление экстрактов растений: Экстракты растений были приготовлены согласно общей фармакопейной статье ОФС.1.5.3.0006.15 Государственной фармакопеи XIII издания «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1).

Получение композиций гидрогеля ПГМГгх/ф с экстрактами растений: Композиции были получены путем погружения навески 1 г в растворы экстракта соответствующих растений на разный промежуток времени (15, 30, 45, 60, 75 мин). После выдерживания гидрогеля в растворах экстракта, навески извлекались и сушились при комнатной температуре до постоянной массы.

Количественное определение: Количественный анализ проводили с использованием микроколоночного жидкостного хроматографа Милихром А-02 (Эконова, Новосибирск, Россия) на колонке ProntoSIL-120-5-C18 AQ (2×75 мм, \varnothing 5 мкм; Metrohm AG, Herisau, Switzerland); подвижная фаза: 0.2 М LiClO₄ в 0.006 М HClO₄ (А), MeCN (В).

Результаты. Полученные композиции гидрогеля ПГМГгх/ф были исследованы методом ВЭЖХ. Из рис. 1А видно, что при сорбции соединений из экстракта *Bergenia crassifolia*, наибольшие значения (82.45%) достигаются для галловой кислоты при 75 мин выдерживания, концентрация арбутина (23.86%) и бергенина (17.14%) за все время выдерживания принципиально не изменяется. В случае сорбции веществ из экстракта *Calendula officinalis*, был определен состав веществ (3-кофеилхинная кислота; нарциссин; тифанезид), максимально сорбируемых гидрогелем (рис. 1Б). Эксперимент показал, что после 45 мин выдерживания гидрогеля в растворе экстракта, концентрация веществ выходит на плато. Сорбция гидрогелем веществ из экстракта *Calendula officinalis* носит схожий характер с формированием композиции с экстрактом *Tussilago farfara* (рис. 1С).

Вероятно, такая высокая сорбция карбоксилсодержащих соединений гидрогелем обусловлена комплексообразованием за счет протонирования вторичных аминогрупп гексагидротриазнового цикла, образовавшегося после сшивки концевых аминогрупп ПГМГгх, а также частичного связывания с положительно заряженным атомом углерода гуанидиновой группы. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение комплексообразования гидрогелей ПГМГгх/ф с карбоксилсодержащими соединениями, с применением физико-химических методов анализа.

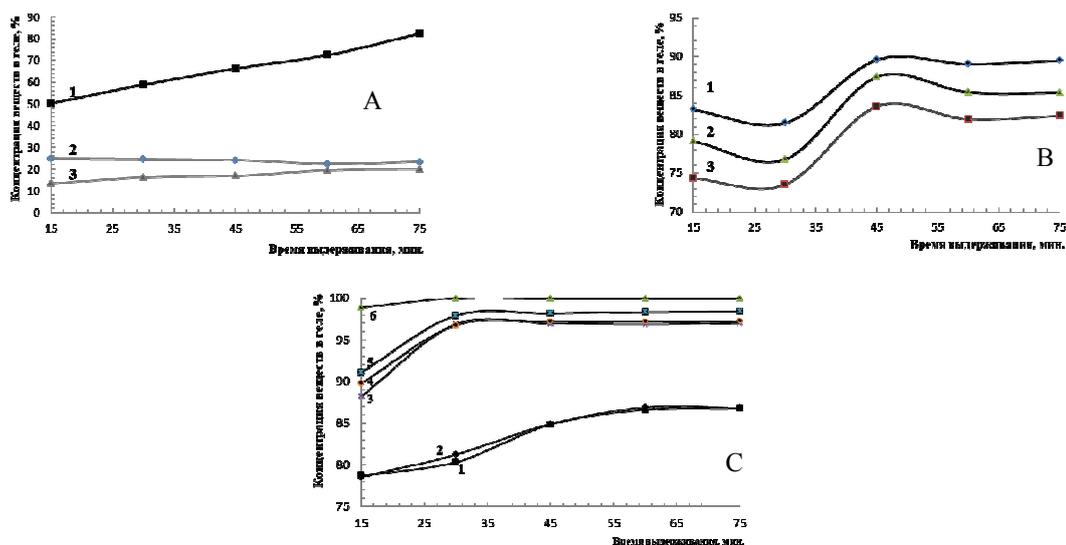


Рис. 1. Динамика сорбции веществ гидрогелем из экстракта А - *Bergenia crassifolia*: 1-галловая кислота; 2-арбутин; 3-берберин; В: *Calendula officinalis* - 1-3-кофеилхинная кислота; 2-нарциссин; 3-тифаноэзид; С: *Tussilago farfara* - 1-5-О-кофеилхинная кислота; 2-4-О-кофеилхинная кислота; 3-3,4-ди-О-кофеилхинная кислота; 4-4,5-ди-О-кофеилхинная кислота; 5-3,5-ди-О-кофеилхинная кислота; 6-1,3-ди-О-кофеилхинная кислота

Выводы. В результате работы установлено, что гидрогель полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, полученный путем сшивки концевых аминогрупп разветвленного полимера, проявляет высокую сорбционную активность в отношении карбоксилсодержащих соединений экстрактов лекарственных растений (*Bergenia crassifolia*, *Calendula officinalis*, *Tussilago farfara*). Методом ВЭЖХ определен состав соединений, концентрации которых доминируют при сорбции гидрогелем: кофеилхинные кислоты, галловая кислота, арбутин, берберин, тифаноэзид, нарциссин. Все эти соединения проявляют высокую антиоксидантную и антибактериальную активность, что ускорит процесс ранозаживления в ходе проведения экспериментов при наружном применении композиций в условиях моделирования повреждений кожных покровов. Характер сорбционной активности будет изучен в ходе последующих исследований.

Исследование выполнено в рамках Гос. задания БИП СО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Xi J., Wu Q., Xu Z., Wang Y., Zhu B., Fan L., Gao L. Aloe-emodin/Carbon nanoparticle hybrid gels with light-induced and long-term antibacterial activity // ACS Biomaterials Science and Engineering. – 2018. – V. 4., No. 12. – P. 4391-4400.
2. Kim J., Lee C.-M. Transdermal hydrogel composed of polyacrylic acidcontaining propolis for wound healing in a rat model // Macromolecular Research. – 2018. – V. 26., N 13. – P. 1219-1224
3. Ochirov O.S., Stel'makh S.A., Mogonov D.M. Hydrogels based on polyalkylguanidines and aldehydes // Polymer Science. Series B. – 2016. – V. 58., N 3. – P. 334-340.
4. Lebedeva S.N., Ochirov O.S., Stelmakh S.A., Grigor'eva M.N., Zhamsaranova S.D., Mogonov D.M. Reparative action of hydrogel polygexamethylenuanidine hydrochloride // BYULLETEN SIBIRSKOY MEDITSINY. – 2018. – V. 17., N 1. – P. 112-120.

**МОДУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В АНТИПАРАЗИТАРНОЙ ТЕРАПИИ
ИНВАЗИИ OPISTHORCHIS FELINEUS**

Е.А. Перина¹, Е.Е. Буйко²

Научный руководитель: доцент, к.б.н. В.В. Иванов¹

¹Сибирский государственный медицинский университет,

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

²Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

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

E-mail: catherineperina@gmail.com

**MODULATION OF OXIDATIVE STRESS IN ANTI-PARASITIC THERAPY OF OPISTHORCHIS
FELINEUS INFECTION**

E.A. Perina¹, E.E. Buyko²

Scientific Supervisor: Associate Professor, Ph.D. V.V. Ivanov¹

¹Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moskovskii tract, 2, 634050

²Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: catherineperina@gmail.com

Abstract. *The influence of oxidative stress caused by L-butionine-sulfoximine and hydrogen peroxide on the O. felineus mature forms viability and egg production was determined. Oxidative stress induced by H₂O₂ at 125 μM and 250 μM did not affect the viability of O. felineus mature forms. Also, it caused a decrease in egg production. After the pre-incubation of O. felineus mature forms with inhibitor of the main antioxidant enzyme (glutathione) synthesis L-butionine-sulfoximine, the hydrogen peroxide leads to the marit cells death at lower concentrations of prooxidant (0.125 and 0.250 mM H₂O₂). Thus, γ-glutamylcysteineligase inhibition by L-butionine-sulfoximine leads to an increase in the O. felineus mature forms sensitivity to exogenous reactive oxygen species, which makes it possible to consider this key glutathione synthesis enzyme as a promising potential therapeutic target in the opisthorchiasis treatment.*

Введение. Описторхоз - природно-очаговое заболевание, вызываемое трематодами рода *Opisthorchis* [1]. Печеночные трематодозы приводят к развитию тяжелых осложнений, таких как гнойный холецистит, абсцессы печени, желчекаменная болезнь, холангит, цирроз, обструктивная желтуха, холецистит. Зрелые формы паразита в гепатобилиарном тракте постоянно подвергаются воздействию активных форм кислорода (АФК), продуцируемыми активированными иммунными клетками хозяина и образующимися в дыхательной цепи митохондрий клеток марит. Для поддержания внутриклеточного редокс баланса существуют эндогенная антиоксидантна система, ключевым компонентом которой является восстановлены глутатион. По сравнению с млекопитающими трематоды обладают ограниченной антиоксидантной способностью, поэтому редокс-зависимые сигнальные пути у трематод можно рассматривать как терапевтические мишени [2].

Поэтому цель исследования – изучение влияние окислительного стресса на жизнеспособность печеночного сосальщика *O. felineus* и продукцию им яиц.

Экспериментальная часть. Модель экспериментального описторхоза воспроизведена согласно рекомендациям фармакологического комитета Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития на самцах золотистых хомяков *Mesocricetus auratus* массой 80-110 г. (разрешение локального этического комитета № 6080 от 08.10.2018) [3]. Спустя 3 месяца после заражения из гепатобилиарного тракта хомяков извлечены жизнеспособные мариты *O. felineus*.

Для оценки влияния окислительного стресса, вызванного L-бутионин-сульфоксином (BSO), на жизнеспособность марит *O. felineus* и продукцию ими яиц взрослые формы инкубировали в стерильных чашках Петри при 37 °С в атмосфере углекислого газа (5%) в среде RPMI 1640, содержащей 100 мкг/мл и стрептомицина 100 Ед/мл с различными концентрациями перекиси водорода и селективного ингибитора γ -глутамилстеинлигазы соответственно. Для оценки жизнеспособности зрелых форм *O. felineus* использовали MTS - тест [4], для чего взрослые формы *O. felineus* инкубировали в 200 мкл фосфатно-солевого буфера с добавлением 40 мкл MTS реагента (Promega) при 37 °С в течение 1 часа. После инкубационную среду помещали в 96 луночный планшет и измеряли абсорбцию при 492 нм с использованием микропланшетного фотометра (Sunrise, Австрия). Для оценки продукции яиц взрослые формы были инкубированы в течение 24 часов, культуральную среду отбирали, центрифугировали 10 минут 3500 об/мин., надосадок отбирали, осадок пипетировали и в камере Горяева подсчитывали количество яиц.

Результаты. Использование перекиси водорода для модуляции окислительного стресса *in vitro* является классическим подходом для исследования влияния окислительного стресса на жизнеспособность и функциональное состояние клеток. В результате экспериментов установлено, что H_2O_2 в концентрациях 0,125 мМ и 0,250 мМ через 24 часа инкубации не влияла на жизнеспособность зрелых форм *O. felineus*, а в концентрации 0,5 мМ и выше вызывала значительное снижение жизнеспособности марит (рисунок 1А).

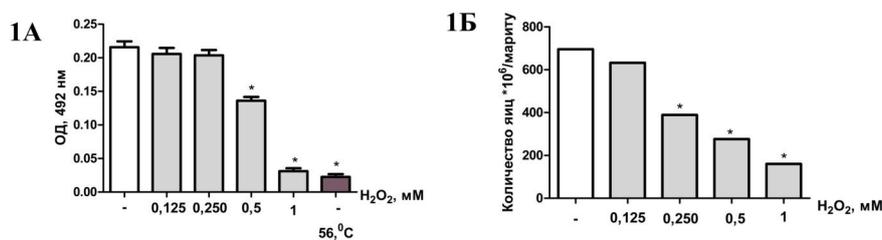


Рис. 1. Жизнеспособность взрослых форм *O. felineus* (А) и продукция ими яиц (Б) за 24 часа при инкубации с различными концентрациями перекиси водорода

* - статистически значимый уровень различий относительно контрольной группы $p < 0,05$

У марит, обработанных 1 мМ H_2O_2 в течение 24 часов смертность через 24 ч составила 100 %, а при светооптическом исследовании отмечалось изменение морфологии тигумента. Установлено, что возрастающие концентрации H_2O_2 приводили к дозозависимому снижению содержания яиц в инкубационной среде (Рисунок 1Б). При этом уменьшение продукции яиц при инкубации марит с высокими концентрациями H_2O_2 (0,5 и 1 мМ) обусловлено снижением жизнеспособности клеток. Более низкие концентрации H_2O_2 (0,125 и 0,250 мМ) не приводили к гибели клеток марит, но уменьшали продукцию ими яиц. Это может быть обусловлено снижением функционального состояния клеток зрелых форм *O. felineus* в присутствии прооксиданта. Для изучения участия эндогенных

антиоксидантных систем в защите от прооксидантного действия H_2O_2 у трематод, было исследовано сочетанное действие различных концентраций перекиси водорода и селективного ингибитора синтеза глутатиона - L-бутионин-сульфоксими́на (Рисунок 2).

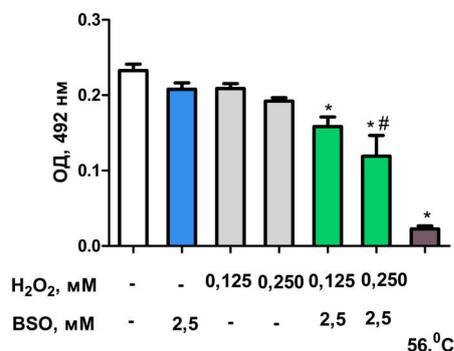


Рис. 2. Влияние L-бутионин-сульфоксими́на и H_2O_2 на жизнеспособность взрослых форм *O. felineus*. * - статистически значимый уровень различий относительно контрольной группы $p < 0,05$, # - статистически значимый уровень различий относительно группы, которые инкубировали с 0,125 mM H_2O_2 + 2,5 mM BSO, $p < 0,05$

В результате экспериментов установлено, что после преинкубации зрелых форм *O. felineus* с L-бутионин-сульфоксими́ном, перекись водорода приводила к гибели клеток марит при более низких концентрациях прооксиданта (0,125 и 0,250 mM) (Рисунок 2).

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что ингибирование γ -глутамилцистеинлигазы L-бутионин-сульфоксими́ном приводит к повышению чувствительности зрелых форм *O. felineus* к экзогенным активным формам кислорода, что позволяет рассматривать ключевой фермент синтеза глутатиона как перспективную потенциальную терапевтическую мишень при лечении описторхоза.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Томской области в рамках научного проекта № 18-415-703011.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Описторхоз в РФ. Взгляд на проблему в 21 веке / Л.М. Огородова [и др.]; науч. ред. Л.М. Огородова, А.Э. Сазонов; М-во здравоохранения РФ, Сиб. гос. ун-т. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2016. – 130 с.
2. Huang H. H., Rigouin C., L Williams D. The redox biology of schistosome parasites and applications for drug development //Current pharmaceutical design. – 2012. – Т. 18., №. 24. – С. 3595-3611.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных / под ред. А.М. Миронова. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
4. Berridge M. V., Herst P. M., Tan A. S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction //Biotechnology annual review. – 2005. – Т. 11. – С. 127-152.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТЕЙ МАТЕРИАЛОВ С МНОГОСТЕННЫМИ УГЛЕРОДНЫМИ
НАНОТРУБКАМИ НА АДГЕЗИОННЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ E. COLI**А.П. Попов, А. И. Димитриева, Д. С. Юманов

Научный руководитель: к.ф.-м.н. А. В. Степанов

Чувашская государственная сельскохозяйственная академия,

Россия, г. Чебоксары, ул. К. Маркса, 29, 428003

E-mail: popovaleksandr.petrovich@yandex.ru**STUDY OF MATERIALS SURFACES WITH MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES ON THE
ADHESION PROPERTIES OF E. COLI BACTERIA**A.P. Popov, A.I. Dimitrieva, D. S. Yumanov

Scientific supervisor: PhD A. V. Stepanov

Chuvash State Agricultural Academy, Russia, Cheboksary, st. K. Marx, 29, 428003

E-mail: popovaleksandr.petrovich@yandex.ru

Abstract. *This study tests materials based on vertically oriented multi-walled carbon nanotubes for adhesion using E. Coli bacteria. Experiments were conducted with three samples with different surface structures. It was shown that the presence of a loose carbon film on the surface of the samples reduces the density of bacteria.*

Введение. Создание биосовместимых материалов на основе углеродных нанотрубок для носимых сенсоров является актуальной задачей [1-6]. Ранее было показано, что биосовместимость определяется смачиваемостью и адгезионными свойствами материалов [7]. Исходя из этого цель нашей работы – исследование адгезионных свойств E.Coli на поверхности образцов с вертикально-ориентированными многостенными углеродными нанотрубками. Материал с хорошей адгезивной способностью позволит измерять концентрацию бактерий на поверхности биосенсора, а материал с наименьшей контаминацией сенсора даст возможность отслеживать ферментную активность живого организма.

Экспериментальная часть. Образцы вертикально-ориентированных многостенных нанотрубок созданы методом термического осаждения из газовой фазы [8]. В работе исследовались три образца, параметры синтеза которых приведены в таблице 1.

Таблица 1

№	1	2	3
Маркировка	ФП-336	ФП-340	ФП-341
Температура синтеза T, °C	830	850	870
Δ смеси (расход смеси катализатора в растворе)	49	11	35
Время нагрева, t1, мин	20	24	39
Время синтеза, t2, мин	33	61	30

Для тестирования роста бактерий E.Coli на образцах готовились пробирки с мясопептонным бульоном (МПБ LB по Lennox, Диаэм). Первоначально, предварительно простерилизованные образцы

на пластинках кремния помещались в стеклянные пробирки с МПБ, туда же происходил высев культуры бактерий, приготовленной из препарата «Колибактерин» (Колибактерин сухой (Colibacterin siccum)). Сухое вещество препарата разводилось в 15 мл дистиллированной воды. Культура готовилась из 0.1 мл начального раствора препарата «Колибактерин» разведением в 10^{-4} , 10^{-7} , 10^{-10} от начального объема в дистиллированной воде. Образцы отбирались равными по массе 0.015 г. После суточной выдержки в термостате (ТС-1/80 СПУ), при $t=37^{\circ}\text{C}$. Для определения плотности бактерий в пробирках с МПБ использовался денситометр (Densilameter II –Mikrolatest). Всего было проведено 48 измерений.

Высев бактериальной культуры производился на образцы нанотрубок 1-3 (рис. 1), которые имеют различные структурные и поверхностные свойства. В частности, образцы № 1,3 в отличие от образца № 2 практически не содержат на поверхности рыхлой углеродной пленки. Самой «чистой» поверхностью обладает образец № 1.

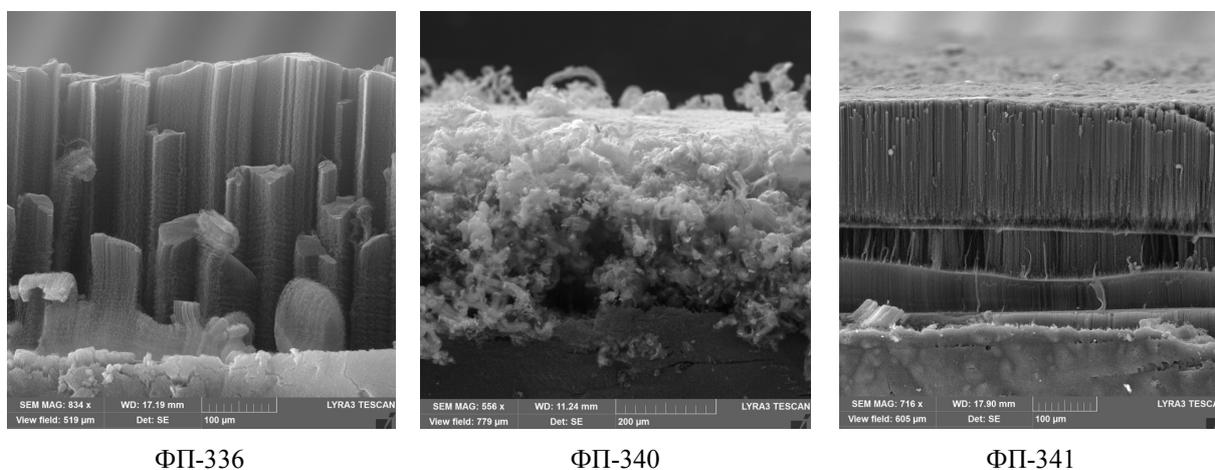


Рис. 1. СЭМ образцов слева на право: № 1-3

Результаты. Адгезивные свойства углеродных нанотрубок нами исследовались по изменению плотности бактерий после суточного посева в зависимости от номера образца (Рис. 2). Лучшие показатели роста суточной колонии были отмечены в образцах ФП-336 (№1) и ФП-341 (№3). Данные результаты коррелируют с результатами, которые мы получили ранее в эксперименте по смачиваемости образцов МПБ с E.Coli-M17. Было выявлено, что образец ФП-340, имеющий на своей поверхности рыхлую углеродную массу, оказался самым гидрофильным и в то же время оказывал негативное влияние на рост бактерий. И совершенно противоположно образцу ФП-340, образец ФП-336, являющийся наиболее гидрофобным, оказался самым благоприятный для роста бактерий.

Закключение. В результате проведенных исследований выявили, что культуры на образцах 1 и 3 показывают лучший рост, а, следовательно, и большую биосовместимость, что связано со структурными особенностями.

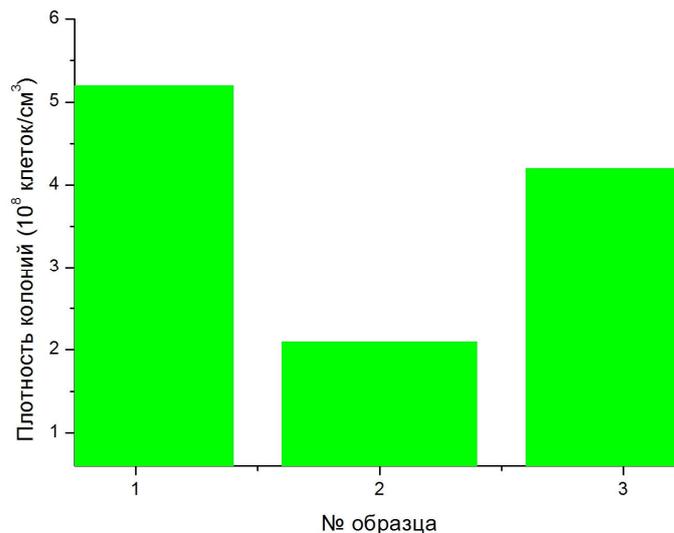


Рис. 2. Плотность бактерий в пробирках с МПБ для разведения 10^{-7}

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Snegin E., Gusev A., Snegina E., Barkhatov A., Vasyukova I., Artemchuk O. Genotoxicity evaluation of multiwalled carbon nanotubes: in vivo studies in mice // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2020. – V. 433. – P. 012010.
2. Kobayashi N., Izumi H., Morimoto Y. Review of toxicity studies of carbon nanotubes // Journal of Occupational Health. – 2017. – Т. 59, № 5. – С. 394-407.
3. Zaporotskova I. V., Boroznina N. P., Parkhomenko Y. N., Kozhitov L. V. Carbon nanotubes: Sensor properties. A review // Modern Electronic Materials. – 2016. – V. 2, No. 4. – P. 95-105.
4. Sireesha M., Jagadeesh Babu V., Kranthi Kiran A. S., Ramakrishna S. A review on carbon nanotubes in biosensor devices and their applications in medicine // Nanocomposites. – 2018. – V. 4, No. 2. – P. 36-57.
5. Wu S.-J., Schuergers N., Lin K.-H., Gillen A. J., Corminboeuf C., Boghossian A. A. Restriction Enzyme Analysis of Double-Stranded DNA on Pristine Single-Walled Carbon Nanotubes // ACS Applied Materials & Interfaces. – 2018. – V. 10, No. 43. – P. 37386-37395.
6. Kim T., Cho M., Yu K. J. Flexible and Stretchable Bio-Integrated Electronics Based on Carbon Nanotube and Graphene // Materials. – 2018. – V. 11, No. 7. – P. 1163.
7. Lüdecke C., Jandt K. D., Siegismund D., Kujau M. J., Zang E., Rettenmayr M., Bossert J., Roth M. Reproducible Biofilm Cultivation of Chemostat-Grown Escherichia coli and Investigation of Bacterial Adhesion on Biomaterials Using a Non-Constant-Depth Film Fermenter // PLOS ONE. – 2014. – V. 9, No. 1. – P. e84837.
8. Elsehly E. M., Chechenin N. G., Makunin A. V., Shemukhin A. A., Motaweh H. A. Enhancement of CNT-based filters efficiency by ion beam irradiation // Radiation Physics and Chemistry. – 2018 – V. 146. – P. 19-25.

**ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТОТИПА АНТИМИКОТИКА НА
ОСНОВЕ КЛОТРИМАЗОЛА**

Ю.Д. Разгуляева, Д.А. Федоришин

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. И.А. Курзина

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

E-mail: yuliya-razgulyaeva@rambler.ru

STUDY OF SPECIFIC ACTIVITY OF ANTIMICOTIC PROTOTYPE BASED ON CLOTRIMAZOLE

Y. D. Razgulyaeva, D.A. Fedorishin

Scientific Supervisor: Prof., Dr. I.A. Kurzina

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

E-mail: yuliya-razgulyaeva@rambler.ru

Abstract. *Clotrimazole is an antifungal agent for topical application from the group of imidazole derivatives. However, the high adaptability of fungi to old antimycotics forces us to look for new compounds with antifungal activity. Therefore, the synthesis of coordination compounds based on clotrimazole is a promising direction for the search for new antimycotics. In this study, a prototype antimycotic based on clotrimazole was studied. The high antifungal activity of the new compound has been established. The synergistic action of ligands in this composition has been established.*

Введение. В последнее десятилетие, согласно данным ВОЗ, человечество переживает эпидемию оппортунистических инфекций. Такие инфекции вызываются различными возбудителями – вирусами, бактериями и грибами. Грибковая инфекция в большинстве случаев является маркером иммунодефицитных состояний и часто требует совместного преемственного лечения с врачами-инфекционистами, иммунологами и гематологами [1].

Грибковые поражения возникают в результате дисфункций иммунной системы и дисметаболических расстройств в организме, которые имеют различную этиологию. В связи с этим в настоящее время особо актуальным направлением исследований является создание и изучение новых препаратов, обладающих фунгицидной и фунгистатической активностью. Данные препараты могут применяться для лечения групп инфекций, вызванных различными видами патогенных и условно патогенных грибов.

Лекарства, применяемые для лечения данного типа заболеваний, включают клотримазол, которые используются в комбинации с антибактериальными препаратами [2]. Клотримазол (CLZ) является имидазольным противогрибковым средством широкого спектра действия. CLZ также проявляет селективную антибактериальную активность. Противогрибковая активность CLZ связана с его способностью вмешиваться в биосинтез эргостерола с последующим истощением эргостерола и его заменой на виды стеролов, нарушая, таким образом, проницаемость мембраны [3].

Патогенные грибки быстро адаптируются к известным противогрибковым препаратам. Все это делает проблему разработки новых антимикотиков весьма актуальной. Важным направлением поиска новых антимикотиков является усиление антигрибной активности уже известных соединений, в

частности, клотримазола. Этого можно достичь путем синтеза новых координационных соединений на основе клотримазола и иных неорганических составляющих, потенциально обладающих более сильной антигрибной активностью, чем исходные вещества.

Ранее были синтезированы новые координационные соединения на основе клотримазола, которые проявляют фунгицидную и фунгистатическую активность в отношении патогенных дрожжеподобных грибов, являющихся распространенными возбудителями микозов. Одним из таких соединений является диакванитрат-бис-клотримазола-серебряный (I) (ДКА). Это соединение имеет формулу $[\text{Ag}(\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_2)_2]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и представляет собой комплексную соль на основе клотримазола и нитрата серебра. Образец для исследования синтезирован и предоставлен Скорик Н.А. [4].

Цель работы заключается в изучении действия прототипа нового антигрибного препарата на основе клотримазола на дрожжевые грибы.

Материалы и методика исследования. Поскольку данное соединение является ранее не представленным прототипом антимикотика, главной сложностью всего эксперимента является определение его подавляющей концентрации. Поэтому для экспериментов выбрана стартовая высокая концентрация образца – 5 мг/мл. Всего было протестировано 1 предварительно синтезированное соединение с антигрибной активностью. В качестве тест-системы были использованы грибки *Saccharomyces cerevisiae*. Для изучения свойств образца было применено определение антигрибной активности луночно-диффузионным методом. Среда для культивирования дрожжей представляла собой стандартную для данных грибков – среду Сабуро, содержащую: глюкоза – 40 г/л, пептон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, агар микробиологический – 1,5-2 % от объема. На каждую чашку Петри с 15 мл агаризованной среды Сабуро осуществлялся посев штамма дрожжей методом газона (0,1 мл суспензии клеток в концентрации $(1 \cdot 10^6)$ клеток/мл) из чистой культуры. Затем в центре чашки с помощью стерильного пробочного сверла была сделана лунка диаметром 7 мм на всю толщину слоя агара. В лунку вносилось 0,1 мл суспензии образца, приготовленной на физиологическом растворе. В качестве контрольных препаратов использовались препараты клотримазола $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_2$ (Clm) и нитрата серебра AgNO_3 в виде фармакологических субстанций. Концентрации контрольных препаратов соответствовали их содержанию в исследуемом соединении $[\text{Ag}(\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_2)_2]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Инкубирование производилось в термостате при температуре 30 °С в течение 24 ч. После этого измерялась зона подавления роста дрожжевых грибов с точностью до 0,1 мм. Чем больше зона ингибции роста гриба, тем выше фунгицидная активность соединения. Зоной ингибции роста грибов считалась зона полного подавления роста колоний. Однако при этом игнорировались единичные и очень мелкие колонии грибов в зоне подавления.

Результаты. Результаты, полученные в ходе тестирования активности ДКА, показывают, что данное соединение обладает значительной антигрибной активностью, существенно подавляя рост и развитие *Saccharomyces cerevisiae*. При этом образуются значительные зоны подавления роста. Диаметр зон подавления роста в чашках с образцом ДКА значительно больше, чем в чашках с контрольными образцами. Это было подтверждено статистически ($p < 0,001$). Изучение антигрибной активности соли $[\text{Ag}(\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_2)_2]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5 мг/мл) в сравнении с “холостыми опытами” (AgNO_3 0.95 мг/мл; Clm 3.85 мг/мл) показало, что в составе координационного соединения AgNO_3 и $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_2$ обладают синергичностью, существенно увеличивая свою антигрибную активность (Рисунок 1).

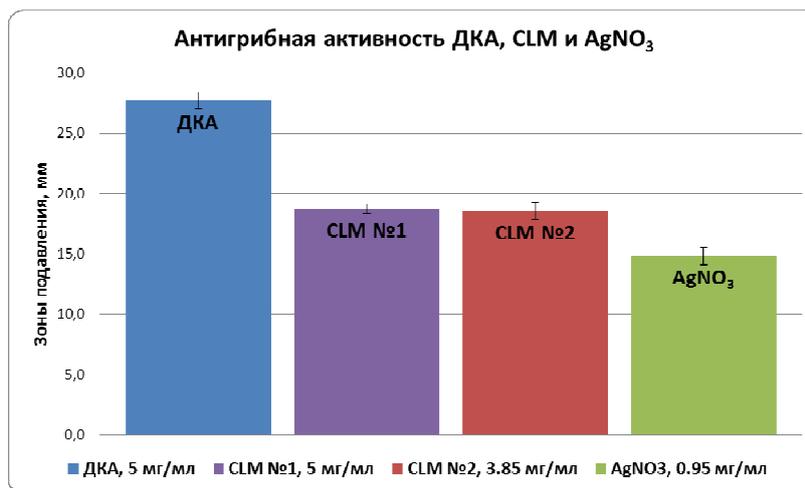


Рис. 1. Размер зон подавления роста *Saccharomyces cerevisiae* соединением на основе клотримазола. Составляющие (Clm, AgNO₃) по отдельности действуют слабее, чем образец ($p < 0,001$)

Заключение. Таким образом, можно заключить, что исследованный образец прототипа антимикотика на основе клотримазола обладает значительной антигрибной активностью, образуя существенные зоны подавления роста тест-объекта. При этом исследованное соединение проявляет большую антигрибную активность, чем любой из его составляющих по отдельности. Следовательно, синтез координационных соединений на основе уже известных антимикотиков является перспективным направлением усиления активности подобных препаратов. Также можно сделать предположение, что данное соединение потенциально может снижать численность или предотвращают развитие групп инфекций, вызванных грибами.

Работа выполнена в рамках научного проекта при поддержке Программы повышения конкурентоспособности ТГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taudorf E.H. Jemec G.B.E., Hay R.J., Saunte D.M.L. Cutaneous candidiasis – an evidence-based review of topical and systemic treatments to inform clinical practice // JEADV. – 2019. – №33. – С. 1863-1873.
2. Kiakojuri K. Rajabnia R., Omran S.M., Pournajaf A., Karami M. Role of Clotrimazole in Prevention of Recurrent Otomycosis // Research Article. – 2019. – С. 6.
3. Carbone C. Fuochi V., Zielinska A. Dual-drugs delivery in Solid Lipid Nanoparticles for the treatment of *Candida albicans* mycosis // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2019. – С.24.
4. Скорик Н.А. И.А. Курзина, В.В. Козик Взаимодействие клотримазола с соединениями некоторых d-металлов и органическими кислотами // Синтез и свойства неорганических соединений. – 2019. – В печати.

**ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ИНДЕКСОМ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ И
ТРИСОМИЕЙ 16 У СПОНТАННЫХ АБОРТУСОВ**

Е.С. Сердюкова¹, О.Ю. Васильева², Д.И. Жигалина²

Научный руководитель: д.б.н. С.А. Васильев²

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

² НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ,

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

E-mail: katya.serdyukova.1997@mail.ru

**CORRELATION BETWEEN METHYLATION INDEX OF GENES AND TRISOMY 16 IN
MISCARRIAGES**

E.S. Serdyukova¹, O.Yu. Vasilyeva², D.I. Zhigalina²

Scientific adviser: PhD, S.A. Vasiliev²

¹ Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Av., 36, 634050

² Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,

Russia, Tomsk, Naberezhnaya r. Ushayki, 10, 634050

E-mail: katya.serdyukova.1997@mail.ru

Abstract. *In this study, the targeted bisulfite massive parallel sequencing was used to study the level of gene methylation (ANKRD53, GATA3, CALCB, TRPV6, SLC13A4) in miscarriages. Using bioinformatics approaches, we found a statistically significant increase in methylation in the promoter regions of analyzed genes. A relationship was observed between the level of methylation of the ANKRD53 gene, which is responsible for chromosome segregation in mitotic division and the fraction of cells with a trisomy karyotype of miscarriages with aneuploidy. Also, in this sample, aberrant methylation of the regulatory region of the transcription factor GATA3 was noted, which is the main component for the timely differentiation of cytotrophoblast cells in the prenatal period. The promoters of the remaining genes (CALCB, TRPV6 and SLC13A4) were also hypermethylated, which may affect the outcome of embryo development in the early stages of pregnancy.*

Введение. Нарушение эпигенетического статуса ДНК на ранних этапах развития эмбриона, вследствие воздействия неблагоприятных факторов, может стать одной из причин гибели для развивающегося организма [1]. В настоящее время особое внимание уделяется изучению эпигенетических процессов реализации наследственной информации в эмбриональном развитии [2, 3]. Метилирование может вносить существенный вклад в такие биологические процессы как: регуляцию экспрессии генов, подавление мобильных элементов генома [4], обеспечение стабильности хромосом, ремоделирование структуры хроматина [5]. Кроме того, метилирование в процессе эмбриогенеза динамически изменяется. Чаще всего гибель эмбрионов происходит в I триместре беременности, и в половине случаев причиной становятся геномные мутации, основную часть которых составляют анеуплоидии. Изменение числа хромосом может сказаться на изменении метилирования ДНК в промоторах отдельных генов, за счёт нарушения дозового баланса генов. Данное событие оказывает

негативное влияние на внутриутробное развитие эмбриона. По результатам ранее проведенного широкогеномного анализа на метилчипах “Infinium HumanMethylation27 Bead Chip” (Illumina, США) у спонтанных абортусов с анеуплоидией были выделены дифференциально-метилованные гены, которые легли в основу панели генов для детального исследования индекса метилирования с помощью таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования [6]. Цель данного исследования – оценить взаимосвязь статуса метилирования CpG-сайтов промоторной области генов с наличием трисомии по хромосоме 16 у спонтанных абортусов I триместра беременности.

Экспериментальная часть. В исследовании были использованы образцы цитотрофобласта хориона (n=22) спонтанных абортусов с анеуплоидией (трисомия 16) и 10 медицинских абортусов первого триместра беременности. Образцы предоставлены биобанком НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Выделение геномной ДНК из эмбриональных тканей проводилось путём их разделения на хорион и мезодерму с последующей инкубацией с протеиназой К в течение 16 ч при 37°C. Далее проводилась фенол-хлороформная экстракция ДНК. Качество ДНК оценивали с использованием спектрофотометра NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США), концентрацию устанавливали при помощи флуориметра Qubit® (ThermoFisher Scientific, США). После выделения ДНК подвергали бисульфитной модификации набором EZ DNA Methylation-Direct Kit (Zymo Research, США), принцип действия которого заключается в конвертировании неметилованного цитозина в урацил с последующим образованием тимина в ходе ПЦР. Была проведена ПЦР-амплификация фрагментов бисульфит-конвертированной ДНК, соответствующих промоторам генов (*ANKRD53*, *GATA3*, *CALCB*, *SLC13A4*, *TRPV6*), в каждом из которых было несколько анализируемых CpG сайтов. Геномные координаты исследуемых фрагментов приведены в таблице (таблица 1). Праймеры подбирались с использованием инструмента Primer-BLAST NCBI.

Таблица 1

Геномные координаты фрагментов промоторов генов (согласно сборке GRCh38)

Ген	Хромосома	Начало	Конец
ANKRD53	2	70978926	70979475
CALCB	11	15072481	15073849
GATA3	10	8049354	8053485
SLC13A4	7	135727815	135728662
TRPV6	7	142885085	142886120

Пробоподготовка библиотек для секвенирования была выполнена с использованием набора Illumina Nextera®XT. ДНК подверглась тагментации и последующим двум раундам ПЦР, направленным на лигирование адаптеров, а затем специфических индексов. Массовое параллельное секвенирование проводилось на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора Micro Kit v2 в режиме 2x150 bp согласно протоколу производителя. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью ресурса Bioconductor в среде R.

Результаты. После проведения статистического анализа был определён уровень метилирования в промоторной области всех исследованных генов, его процент у спонтанных абортусов с трисомией 16 был значительно выше по сравнению с контрольной группой, представленной медицинскими абортусами. Обнаружены дифференциально-метилованные CpG-сайты, вероятно определяющие

регуляцию экспрессии этих генов. Исходя из полученных данных, можно говорить о том, что у спонтанных абортусов анеуплоидии сопровождаются некоторыми нарушениями эпигенетической регуляции генома. Во внутриутробном развитии наличие таких нарушений может быть ассоциирована с развитием патологического механизма, приводящего к гибели эмбриона. У спонтанных абортусов с трисомией 16 обнаружено повышение уровня метилирования гена *ANKRD53*, важная функция которого заключается в регуляции расхождения хромосом в процессе митоза. Возможно, это приводит к снижению уровня доли клеток с трисомией у спонтанных абортусов с анеуплоидией и формирования мозаицизма. Помимо этого, в выборке спонтанных абортусов с трисомией 16 наблюдалось аномальное метилирование регуляторной области транскрипционного фактора *GATA3*. Он является важным элементом в процессе дифференцировки клеток цитотрофобласта во внутриутробном развитии. Предполагается, что нарушение его функционирования может повлиять на имплантацию зародыша в стенку матки, что впоследствии приведёт к гибели плода [7]. Промоторы генов *CALCB*, *TRPV6* и *SLC13A4*, были также с повышенным уровнем метилирования, относительно выборки медицинских абортусов, что может негативно влиять на дальнейшее развитие эмбриона на начальных этапах беременности. В качестве порога гиперметилирования принимались отличия минимум в 10% в большую сторону по сравнению с группой сравнения.

Заключение. Данное исследование при помощи метода таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования позволило выявить повышение уровня метилирования в промоторной области исследуемых генов у спонтанных абортусов с анеуплоидией. Такое явление может нарушать сигнальное взаимодействие между эмбрионом и матерью, а впоследствии стать причиной гибели эмбриона на раннем этапе онтогенеза.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-74-10026.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов, В. С., Кузнецова, Т. В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. Научно-практические аспекты. – СПб.: Издательство Н–Л., 2007. – 640 с.
2. Ko, M. Chromatin remodeling, development and disease / M. Ko, DH. Sohn, H. Chung, RH. Seong // *Mutat Res.* – 2008. – Vol. 647(1-2). – P.59-67.
3. Shi, L. Epigenetic regulation in mammalian preimplantation embryo development / L. Shi, J. Wu // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2009. – Vol.5. – P.1-11.
4. Goll, MG. Eucaryotic cytosine methyltransferases / MG. Goll, TH. Bestor // *Annu Rev Biochem.* – 2005. – Vol.74. – P.481-514.
5. Reik, W. Epigenetic reprogramming in mammalian development / W. Reik, W. Dean, J. Walter // *Science.* – 2001. – Vol.293. – P.1089–1093.
6. Эпигенетические эффекты трисомии 16 в плацентарных тканях человека / Е.Н. Толмачёва [и др.]. – М.: Российская академия наук. – 2013. – Т. 47, № 3. – С. 423–432.
7. Yauk, C. Germ-line mutations, DNA damage, and global hypermethylation in mice exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location / A . Polyzos, A. Rowan-Carroll, CM. Somers, et al. // *Proc Natl Acad Sci USA* . – 2008. – Vol. 105(2). – P.605-610.

**ПРЕДИКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТРУДНОГО ТЕМПЕРАМЕНТА
В ПЕРИОД РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА**

А.В. Силаева, О.В. Терехина, С.Б. Лещинская

Научный руководитель: профессор, д. пс. н. Бохан Т.Г.

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

E-mail: silaevaav@yandex.ru

**PREDICTORS OF FORMATION OF DIFFICULT EARLY CHILD TEMPERAMENT
AT THE INITIAL STAGES OF ONTOGENY**

A.V. Silaeva, S.B. Leshchinskaia, O.V. Terekhina

Scientific Supervisor: Prof., Dr. Bokhan T.G.

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Str., 36, 634050

E-mail: silaevaav@yandex.ru

***Abstract.** Difficult early child temperament can increase behavioral difficulties in childhood and over time become the cause of mental and behavioral disorders. Maternal stress and anxiety during pregnancy, postnatal symptoms of depression and anxiety, specific educative strategies can be risk factors for the formation of a difficult early child's temperament. The aim of the study was to study the impact of a woman's mental and psychological health during pregnancy and after childbirth on the risk of developing a difficult child temperament in children born through IVF. 217 women with natural conception and 90 women with IVF conception were interviewed. It was found that symptoms of depression and anxiety in both empirical groups; high rates of overprotection in the group of women with spontaneous pregnancy and low levels of parental self-efficacy in the group of women with IVF pregnancy may be predictors of difficult early child temperament.*

Введение. Трудный детский темперамент, проявляющийся в высокой реактивности, склонности к негативным эмоциональным проявлениям, низкой эмоциональной гибкости и регуляции эмоций [1] может усиливать поведенческие трудности в детстве, в дальнейшем стать причиной дезадаптации, возникновения психических и поведенческих расстройств [2]. К факторам риска формирования трудного детского темперамента, который согласно данным, является совокупностью биологических особенностей и факторов микроокружения, относят испытываемые матерью в период беременности тревогу и стресс [1], постнатальные симптомы депрессии и тревоги, определенные воспитательные стратегии, применяемые родителями в отношении ребёнка [3]. Повышенные стрессовые гормоны в организме матери, вырабатываемые осью гипоталамус-гипофиз-надпочечники, могут воздействовать на развитие структурных и функциональных элементов нервной системы плода, обуславливающие эмоциональные и поведенческие реакции в периоде младенчества и раннего детства [1]. Тревожность характерна для большинства беременных женщин. Однако, женщинам с беременностью посредством экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) свойственен более высокий уровень психоэмоционального стресса, а также личностной и ситуативной тревожности [2]. В связи с этим целью исследования является

выявление возможности изучить влияние показателей психического и психологического здоровья женщины на риск формирования трудного детского темперамента у детей, рожденных благодаря ЭКО.

Материалы и методы. Исследование проводилось с использованием комплексного, сравнительного методов и следующих психодиагностических методик: опросник психического здоровья после рождения ребёнка [4], опросник адаптивного функционирования [5], опросник о чувствах и отношении к ребёнку [6], шкала темперамента ребёнка [7]. Статистические методы: описательная статистика, U критерий Манна-Уитни, кластерный анализ с помощью метода межгрупповой связи (расстояние коэффициент корреляция Пирсона), дисперсионный анализ, регрессионный анализ пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23. Выборка включала 217 женщин со спонтанной беременностью (СБ) (средний возраст 28 лет) и 90 женщин с беременностью ЭКО (ЭКО) (средний возраст 32 года) и их дети в возрасте 1,5 лет. Сбор данных проводился в третьем триместре беременности и после родов в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации и с соблюдением процедуры сбора информированного согласия на базе НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии (г. Томск), ОГАУЗ «Областной перинатальный центр им. И.Д. Евтушенко» (г. Томск), Центра ВРТ Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск), Медицинского центра «Авиценна» (г. Новосибирск), Сибирского института репродукции и генетики человека (г. Барнаул).

Результаты. Данные методик для диагностики психического здоровья и психологического благополучия [4, 5] были использованы для формирования интегральной оценки психического здоровья женщин. В соответствии с целью исследования был проведен кластерный анализ в эмпирических группах по переменным: «психическое здоровье»; «восприятие качеств ребёнка», «родительская самооффективность», «воспринимаемое влияние родителей», «родительское враждебно-реактивное поведение», «родительское тепло», «гиперопека» [6]. В группе женщин с СБ выделено два кластера, между которыми выявлены значимые различия. Первая кластерная группа (58%) характеризуется значимо меньшей выраженностью проблем с психическим здоровьем ($F=3,983$ при $p=0,047$), нормативными оценками по показателям «родительское враждебно-реактивное поведение» ($F=23,919$ при $p=0,000$), «гиперопека» ($F=25,269$ при $p=0,000$). Во второй группе (42%) хуже показатели психического здоровья, более высокие оценки по паттерну враждебной и карательной стратегии поведения родителя в ответ на трудное поведение ребёнка, гиперопеки. В группе женщин с беременностью ЭКО также выделено два кластера: первый кластер (62%) характеризуется большей выраженностью проблем психического здоровья ($F=12,839$ при $p=0,001$), более низкими оценками по показателям отношения к ребёнку (воспринимаемое влияние родителей ($F=10,407$ при $p=0,002$), родительская самооффективность ($F=10,001$ при $p=0,002$), родительское тепло ($F=6,618$ при $p=0,012$), более выраженным проявлением родительского враждебно-реактивного поведения ($F=27,064$ при $p=0,000$)); второй кластер (38 %) – нормативными показателями психического здоровья, более низкими оценками по враждебным родительским стратегиям, высокими показателями родительской компетентности. Сравнительный анализ между кластерами, выделенными в обеих эмпирических группах матерей по переменным 4 шкал трудного детского темперамента [7]: «сложный темперамент»; «неприспосабливаемый темперамент»; «скудный темперамент», «непредсказуемый темперамент» позволил обнаружить, что у детей женщин с СБ первой кластерной группы не выражены характеристики сложного ($F=13,142$ при $p=0,000$), неприспосабливаемого ($F=7,649$ при $p=0,006$) и скудного

темперамента ($F=7,649$ при $p=0,006$), чем у детей женщин второй кластерной группы. У детей женщин с альтернативным зачатием первой кластерной группы, отмечаются характеристики сложного темперамента ($F=6,094$ при $p=0,017$), чего не наблюдается во второй кластерной группе. Из результатов множественного регрессионного анализа (метод Ввода) следует, что в группе женщин с СБ такая родительская стратегия как «гиперопека» является значимым предиктором (прямая связь) формирования у ребенка неприспосабливаемого типа трудного темперамента ($\beta=0,388$ при $p=0,016$), в группе ЭКО снижение/отсутствие родительской самооффективности (отрицательная связь показателей) ($\beta=-0,434$ при $p=0,046$) значимо вносит вклад в формирование сложного типа трудного темперамента у ребенка.

Выводы. В обеих эмпирических группах предикторами трудного темперамента ребёнка являются симптомы депрессии и тревоги; высокие показатели гиперопеки в группе женщин со спонтанной беременностью и низкий уровень родительской самооффективности в группе женщин с беременностью ЭКО также могут являться предикторами трудного детского темперамента.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-313-90040.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Thiel F., Iffland L., Drozd, F. et al. Specific relations of dimensional anxiety and manifest anxiety disorders during pregnancy with difficult early infant temperament: a longitudinal cohort study // Arch Womens Ment Health. – 2020. <https://doi.org/10.1007/s00737-019-01015-w>
2. Maltby L.E., Callahan K.L., Friedlander S., Shetgiri R. Infant temperament and behavioral problems: analysis of high-risk infants in child welfare // Journal of Public Child Welfare. – 2019. – №13 (5). – P. 512-528.
3. Nieto L., Asunción Lara M., Navarrete L., Manzo G. Infant temperament and perinatal depressive and anxiety symptoms in Mexican women // Sexual & Reproductive Healthcare. – 2019. – № 21. – P.39-45.
4. Poulin C. Validity of a 12-item version of the CES-D used in the National Longitudinal Study of Children and Youth / C. Poulin, D. Hand, B. Boudreau // Chronic Dis Can. –2005. – № 26 (2-3). – P. 65-72.
5. Manual for ASEBA adult forms and Profiles / T. M. Achenbach, L. A. Rescorla. – Burlington, VT: University of Vermont, Research Center for Children, Youth, and Families. – 2003.
6. Boivin M., Perusse D., Dionne G., Saisset V., Zoccolillo M., Tarabulsy G.M., Tremblay N., Tremblay R.E. The genetic-environmental etiology of parents' perceptions and self-assessed behaviors toward their 5-month-old infants in a large twin and singleton sample // Journal of Child Psychology and Psychiatry. – 2005. – № 46. – P. 612-630.
7. Bates J.E., Freeland C.A.B., Lounsbury M.L. Measurement of infant difficultness // Child Development. – 1979. – № 50 (3). – P. 794-803.

**КОМПОЗИТНЫЕ ФТОРПОЛИМЕРНЫЕ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ
ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ**Т.Т. Твердохлебова¹, М.Ю. Ханова²

Научный руководитель: н.с., к.т.н. Е.Н. Больбасов

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

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

²Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Россия,

г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6, 650002

E-mail: aramat_tts@mail.ru, khanovam@gmail.com**COMPOSITE FLUOROPOLYMER PIEZOELECTRIC MEMBRANES
FOR RECONSTRUCTIVE RECOVERY SURGERY**T.T. Tverdokhlebova¹, M.Yu. Khanova²

Scientific Supervisor: researcher, Ph.D., E.N. Bolbasov

¹Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050²Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Russia, Kemerovo, Sosnovyi blvd, 6, 650002E-mail: aramat_tts@mail.ru, khanovam@gmail.com

Abstract. *In the present study, we performed the results of studies on the formation of composite fluoropolymer piezoelectric membranes based on a copolymer of vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene (VDF-TeFE) and polyethylpyrrolidone (PEP) by the electrospinning method. Using scanning electron microscopy, the effect of the PEP content on the structure of the formed membranes was studied. The biocompatibility of the obtained membranes was studied by fluorescence microscopy on a model of human skin fibroblasts. The studied samples with a PEP content of 0, 5, and 15% have good adhesive characteristics, preserve the viability and potential of cells to divide, and therefore are most suitable for further use in regenerative medicine.*

Введение. В последнее время значительный интерес исследователей прикован в разработке пьезоэлектрических фторполимерных мембран (ФПМ), используемых в качестве клеточных матриксов (“cell matrixes”, “scaffolds”), в приложениях реконструктивно-восстановительной хирургии. При этом пьезоэлектрические свойства ФПМ (способность индуцировать электрический заряд под воздействием внешних механических напряжений) позволяют осуществлять электростимуляцию регенерации за счет механического воздействия на матрикс окружающих тканей, не требуя внешнего источника электрической энергии, имплантации батарей или электродов, что исключает возможность накопления в тканях продуктов электролиза [1]. Существенным недостатком, ограничивающим практическое применение ФПМ, является высокая химическая стабильность и биологическая инертность. Решением проблем улучшения свойств ФПМ является разработка на основе фторполимеров композитных мембран с использованием термодинамически несмешивающихся полимеров.

Экспериментальная часть. Для разработки композитных пьезоэлектрических ФПМ в качестве термодинамически несмешивающегося полимера был использован полиэтиленпирролидин, отличающийся высокой растворимостью, гидрофильностью и биосовместимостью. В качестве

полимерного пьезоэлектрика использовали сополимер винилиденфторида с тетрафторэтиленом, обладающего высокой степенью кристалличности и способностью формировать электрически активные кристаллические фазы из расплава даже в отсутствие дополнительной обработки (отжиг, поляризация). Изготовление ФПМ осуществляли методом электроформования (NANON 01A MECC Co., Япония). Для изготовления композитных мембран использовали 5 % прядильные растворы сополимера VDF-TeFE в диметилформамиде с содержанием PEP 5, 15, 25 и 50 масс %. Исследование структуры сформированных мембран проводили методом сканирующей электронной микроскопии (Vega 3, Чехия). Тестирование биосовместимости полученных ФПМ проводили методом флуоресцентной микроскопии (инвертированный микроскоп Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Германия)) на модели фибробластов кожи человека.

Результаты. Изображения структуры мембраны и клеток на ее поверхности представлены на рисунке 1.

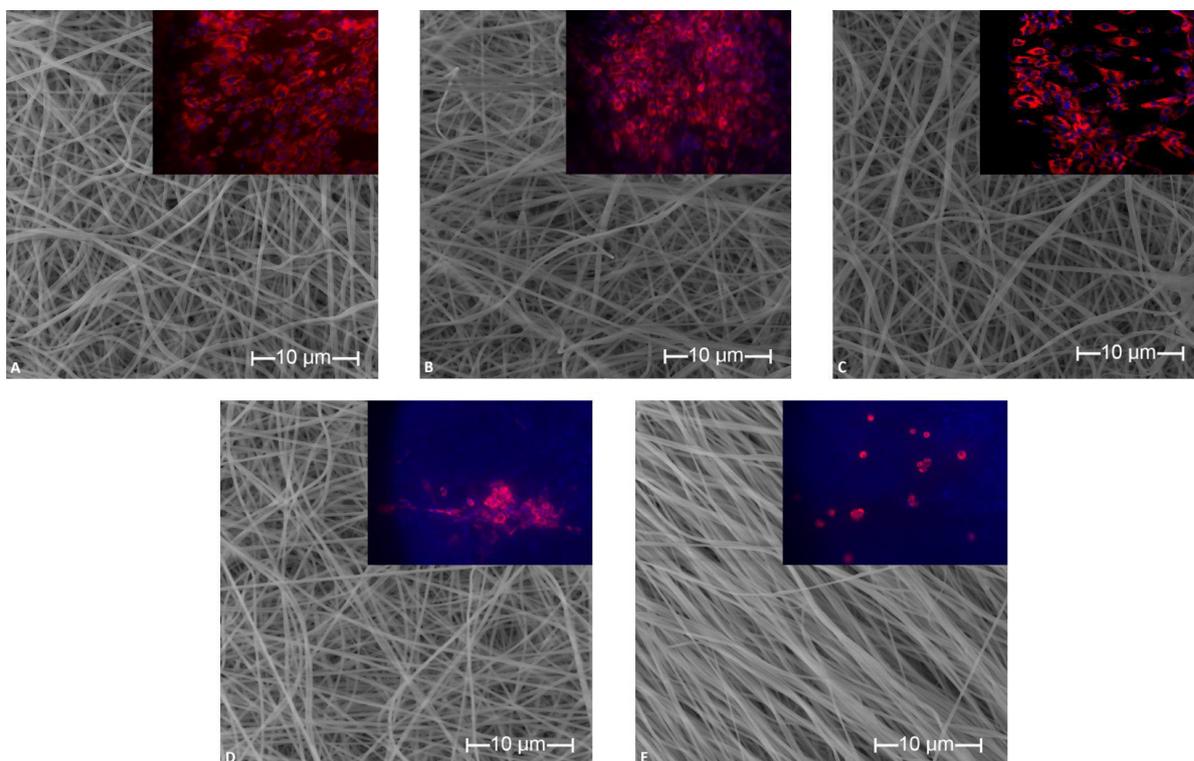


Рис. 1. Структуры композитных фторполимерных мембран и флуоресцентная микроскопия фибробластов человека, адгезированных к поверхности А) чистого VDF-TFE; Б) VDF-TFE, содержащего 5% PEP; В) VDF-TFE, содержащего 15% PEP; Д) VDF-TFE, содержащего 25% PEP; Е) VDF-TFE, содержащего 50% PEP

Установлено, что мембраны с содержанием PEP в диапазоне от 0 до 25 масс % сформированы переплетающимися между собой волокнами с нормальным распределением по диаметру, имеют хорошо развитую взаимосвязанную пористость (рисунок 1), при этом увеличение содержания PEP до 25 масс % приводит к уменьшению среднего диаметра волокон (d_{cp}), формирующих мембрану более чем на 20 % (таблица 1). При содержании PEP 50 масс % волокна приобретают направленность, при этом тенденция уменьшения среднего диаметра волокон сохраняется, что обусловлено снижением вязкости прядильного раствора с увеличением содержания PEP.

Таблица 1

Свойства исследуемых образцов

Содержание PEP, %	d_{cp} , μm	Результаты эксперимента <i>in vitro</i> , ME ($Q_1; Q_3$)		
		Абсолютное количество фибробластов, шт/ mm^2	Абсолютное количество жизнеспособных фибробластов, шт/ mm^2	Относительное количество пролиферирующих клеток, %
0	$0,39 \pm 0,12$	147 (92;191)	147 (92;191)	16,3 (11,2;23,6)
5	$0,38 \pm 0,10$	141 (73;177)	141 (73;177)	19,1 (14,6;30,8)
15	$0,37 \pm 0,08$	72 (49;92)	69 (48;90)	22,5 (5,5;41,0)
25	$0,30 \pm 0,05$	6 (3;10)	5 (3;9)	11,5 (0,0;46,5)
50	$0,28 \pm 0,06$	8 (6;14)	6 (4;10)	0,0 (0,0;16,3)

При изучении абсолютного количества фибробластов, адгезированных к поверхности матрицков, выявлено, что между группами с содержанием PEP в диапазоне от 0 до 5 % достоверная разница по данному показателю отсутствовала ($p > 0,05$). Клетки сохраняли высокий уровень жизнеспособности и пролиферации. Снижение количества адгезированных и жизнеспособных фибробластов наблюдалось при содержании PEP 15 масс %, при этом клетки в этой группе обладали наиболее выраженным потенциалом пролиферации. При увеличении в составе матрицков PEP от 25 до 50 масс % получен фатальный цитотоксический эффект в отношении культивируемых на матрицах фибробластов человека, возможно, обусловленный повышенным содержанием диметилформамида, формирующего токсичный комплекс с PEP.

Заключение. Впервые показана возможность создания композиционных полимерных гидрофильных мембран на основе сополимера VDF-TeFE методом электроформования. Установлено, что с увеличением концентрации PEP происходит уменьшение волокон, формирующих мембрану с $0,39 \pm 0,12$ до $0,28 \pm 0,06$ мкм. Высокой биосовместимостью обладала поверхность матрицков с содержанием PEP в диапазоне от 0 до 15 %. К их поверхности хорошо адгезировали фибробласты человека, и по абсолютному количеству, жизнеспособности и пролиферативной активности не уступали клеткам, культивируемым на культуральном пластике. Таким образом, матриксы с содержанием PEP 0, 5 и 15 % обладают высокой биосовместимостью, поэтому наиболее пригодны для дальнейшего использования в регенеративной медицине. Вероятно, перспективным методом улучшения биосовместимости ФПМ является замена диметилформамида на менее токсичный растворитель.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bolbasov E.N., Anissimov Y.G., Pustovoytov A.V., Khlusov I.A., Zaitsev A.A., Zaitsev K.V., Lapin I.N., Tverdokhlebov S.I. Ferroelectric polymer scaffolds based on a copolymer of tetrafluoroethylene with vinylidene fluoride: Fabrication and properties // Materials Science and Engineering: C. – 2014. – Т. 1., № 40. – P. 32–41.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ ЦИНКА НА БИОСОВМЕСТИМОСТЬ ГИДРОКСИАПАТИТА

Д.А. Федоришин, А.А. Гуцалова, Д.Н. Лыткина

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. И.А. Курзина

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

E-mail: strix187@yandex.ru

RESEARCH OF THE INFLUENCE OF ZINC IONS ON SYNTHESIS AND PROPERTIES OF HYDROXYAPATITE

D.A. Fedorishin, A.A. Gutsalova, D.N. Lytkina

Scientific Supervisor: Prof., Dr. I.A. Kurzina

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

E-mail: strix187@yandex.ru

Abstract. *Hydroxyapatites modified with metal ions are the main inorganic components of bone tissue that are approved for use as components for biocomposites and coatings for surgical implants. This study examined prototypes of functional materials for bone implants based on hydroxyapatite modified with zinc ions. Antibacterial activity and biocompatibility have been established. The studied materials have antimicrobial activity, the samples did not cause significant changes both in the internal organs and in the general condition of laboratory animals during the entire experiment.*

Введение. В настоящее время особо актуальным направлением исследований является создание и изучение биосовместимых материалов для костных имплантатов. Ранее были разработаны новые биосовместимые материалы на основе модифицированного гидроксиапатита (ГА), который обладает всеми свойствами, необходимыми для применения его в качестве минерального компонента биокомпозитов [1].

Модифицированные ионами металлов гидроксиапатиты являются основными неорганическими компонентами костной ткани, разрешенными для использования в качестве компонентов для биокомпозитов и покрытий для хирургических имплантатов. Однако следует отметить, что влияние биосовместимого материала на живые ткани очень усложняется по причине того, что важным фактором является метаболизм каждого биорезорбируемого компонента и продуктов его разложения. На границе раздела ткань-материал происходят реакции организма на инородное тело. При этом, например, острое воспаление необходимо для заживления ран и восстановления гомеостаза в месте повреждения. Однако чрезмерные провоспалительные свойства материала могут становиться причиной разнообразных патологий, приводящих к отторжению имплантата. Поэтому проводить сравнение и делать однозначные выводы о биосовместимости того или иного материала для имплантации, основываясь только на результатах анализа *in vitro* или *in vivo*, затруднительно. Данные процессы следует рассматривать исключительно в комплексе [2].

Цель работы заключается в изучении влияния ионов цинка на биосовместимость цинк-модифицированного гидроксиапатита. Выбор данного иона для модифицирования гидроксиапатитов был

обусловлен тем, что цинк является важным микроэлементом, необходимым для нормального протекания многих биохимических процессов [2]. Также ионы цинка в определенных концентрациях обладают антибактериальной активностью.

Материалы и методика исследования. В качестве исходных компонентов СВЧ-синтеза цинк-модифицированного гидроксиапатита (Zn_xGA) использовали раствор нитрата кальция ($C_m = 0,5$ моль/л) и гидрофосфата аммония ($C_m = 0,3$ 1моль/л), соблюдая мольное соотношения элементов $Ca/P = 5/3$, характерного для гидроксиапатита. Варьируя содержание нитрата цинка в ходе синтеза, получили линейку образцов с различным количеством моль цинка $Ca_{(10-x)}Zn_x(PO_4)_6(OH)_2$, где $x = 0,1; 0,5; 0,9$. Соотношение компонентов определяли с помощью элементного анализа на приставке для энергодисперсионного микроанализа Quantax-70. Элементный анализ проводился до и после эксперимента *in vivo*. Для определения антибактериальной активности применено определение количества клеток высевом на плотные питательные среды (метод Коха) по стандартной методике авторской модификации [1]. Для определения биосовместимости *in vivo* применялась методика, предусмотренная ГОСТ ISO 10993-1-2011 в авторской модификации [1].

Результаты. Элементный состав синтезированных порошков $ZnGA$ по результатам РСМА показывает, что мольное отношение элементов $(Ca+Zn)/P$ составляет 1,4-1,9, что соответствует отношению элементов Ca/P для костной ткани (1,4-2,0) [1]. Элементный анализ, проведенный после извлечения образцов из организма экспериментальных животных показал, что концентрация ионов цинка на поверхности имплантатов снижается примерно на 20-40%. При этом чем выше начальная концентрация цинка в образцах, тем выше его выход из них.

Таблица 1

Результаты элементного анализа образцов группы $ZnGA$

Образец $x (Zn^{2+}, mol)$	Содержание элементов, %				
	O	Ca	P	Zn	$\frac{Ca+Zn}{P}$
До эксперимента <i>in vivo</i>					
0.1	67.47	18.76	13.69	0.18	1.38
0.5	67.84	18.57	12.99	0.72	1.64
0.9	70.94	18.08	9.93	1.06	1.93
После эксперимента <i>in vivo</i>					
0.1	64.90	22.59	12.15	0.12	1.86
0.5	64.58	22.87	12.17	0.36	1.90
0.9	65.04	21.70	12.41	0.83	1.81

Исследованные образцы проявили антибактериальную активность различной интенсивности. При этом образец $Zn_{0,1}GA$ не оказал подавляющего воздействия на численность кишечной палочки. Численность бактерий в жидкой среде с этим образцом несколько меньше, чем в контрольной пробе, но статистически достоверность различий не установлена ($p > 0,05$).

Образцы $Zn_{0,5}GA$ и $Zn_{0,9}GA$ проявили антибактериальную активность, уменьшив численность бактерий по сравнению с контрольной пробой. Образец $Zn_{0,9}GA$ проявил самую высокую антибактериальную активность среди всех исследованных образцов, уменьшив численность бактерий почти на порядок ($p < 0,001$). Немодифицированный гидроксиапатит (GA) также обладал антимикробной активностью ($p < 0,05$). Его антимикробная активность и цитотоксичность в исследованиях *in vivo*

примерно равна образцу $Zn_{0,1}ГА$. Следовательно, образец $Zn_{0,1}ГА$ приблизительно по своему биологическому действию приблизительно равен ГА.

Таблица 2

Результаты изучения антимикробной активности образцов группы ZnГА

№	Образец	КОЕ/мл
1	Контроль	$(3.96 \pm 0.62) \times 10^7$
2	$Zn_{0,1}ГА$	$(3.40 \pm 0.30) \times 10^7$
3	$Zn_{0,5}ГА$	$(2.15 \pm 0.28) \times 10^7$
4	$Zn_{0,9}ГА$	$(8.31 \pm 0.91) \times 10^6$

Таблица 3

Результаты изучения антимикробной активности ГА

№	Образец	КОЕ/мл
1	Контроль	$(1.98 \pm 0.91) \times 10^{10}$
2	ГА	$(1.01 \pm 0.49) \times 10^{10}$

В результате эксперимента *in vivo* обнаружено, что все исследованные материалы вызывали локальную реакцию отторжения различной интенсивности. Реакция местных тканей на все образцы группы ZnГА носила воспалительный характер, но не была некротической. Это подтверждается наличием интенсивного процесса васкуляризации и образованием выраженных фиброзных капсул. Локальный ответ на имплантаты группы ГА был аналогичен реакции группы $Zn_{0,1}ГА$, следовательно, уровни их цитотоксичности схожи. Средняя масса имплантатов перед началом эксперимента составляла 170-200 мг, а после завершения эксперимента – 175-210 мг ($p > 0.05$). Изменение массы имплантатов связано с вращением фиброзной ткани в их поверхность. Резорбции имплантатов во время нахождения в организме экспериментальных животных не обнаружено. Небольшое изменение массы может быть связано с небольшим выходом ионов из имплантатов. Низкая гемодиффузия на месте установки также может быть причиной отсутствия резорбции имплантатов.

Обнаружена связь между концентрацией цинка в образце и его токсическими эффектами. Образцы с высоким содержанием ионов цинка вызывали более сильные токсические эффекты, чем образцы с низким содержанием цинка.

Заключение. Модифицированные ионами цинка гидроксиапатиты обладают существенной антимикробной активностью. Несмотря на некоторую цитотоксичность, данные образцы не вызывали существенных изменений как во внутренних органах, так и в общем состоянии лабораторных животных в течение всего эксперимента.

Работа выполнена в рамках научного проекта при поддержке Программы повышения конкурентоспособности ТГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lytkina D. Gutsalova A., Fedorishin D. [et al.]. Synthesis and Properties of Zinc-Modified Hydroxyapatite // Journal of Functional Biomaterials. – 2020. – V. 11. – № 10. – P. 1-12.
2. Cox, S.C.; Jamshidi, P.; Grover, L.M.; Mallick, K.K. Preparation and characterisation of nanophase Sr, Mg, and Zn substituted hydroxyapatite by aqueous precipitation. Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. – 2014, – № 35. – P. 106–114.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГРИБНОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ КЛОТРИМАЗОЛА

Э.Е. Черникова, Д.А. Федоришин

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. И.А. Курзина

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

E-mail: abby.wade@mail.ru

STUDY OF THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE COMPOUND BASED ON CLOTRIMAZOLE

E.E. Chernikova, D.A. Fedorishin

Scientific Supervisor: Prof., Dr. I.A. Kurzina

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

E-mail: abby.wade@mail.ru

***Abstract.** Clotrimazole is an antifungal agent for topical application from the group of imidazole derivatives. However, the high adaptability of fungi to old antimycotics forces us to look for new compounds with antifungal activity. Therefore, the synthesis of coordination compounds based on clotrimazole is a promising direction for the search for new antimycotics. In this study, a prototype antimycotic based on clotrimazole was studied. The high antifungal activity of the new compound has been established.*

Введение. В настоящее время особенно остро стоит проблема иммунодефицитных состояний человека. При этом возрастает заболеваемость различными инфекциями, которые вызываются различными патогенами: бактериями, вирусами и грибами. Грибковая инфекция, возникающая при иммунодефиците, во многих случаях может относиться к категории труднокурабельных заболеваний и приводить к тяжелым осложнениям [1].

Грибковыми инфекциями называются спровоцированные болезнетворными грибами поражения ногтей, внутренних органов, кожи и слизистых оболочек. Грибковые микроорганизмы достаточно часто встречаются в окружающей среде, вследствие чего человек регулярно может контактировать с ними, а некоторые из них присутствуют в человеческом организме перманентно, участвуя в обменных процессах, переваривании пищи, входят в состав нормальной микрофлоры кишечника, ротовой полости и прочих слизистых. Заболевания могут провоцироваться по различным причинам, но в большинстве случаев поражение организма обусловлено агрессивным поведением уже содержащихся внутри грибов на фоне ослабления иммунитета, а также вследствие взаимодействия с патогенными грибами. Грибы могут развиваться при отсутствии терапии и поражать большие участки кожи, слизистых оболочек и внутренних органов. Для предотвращения развития и уничтожения пагубных грибов следует соблюдать меры защиты, а также проводить терапию антимикотиками, выпускаемых в разных формах [1].

Лекарства, применяемые для лечения данного типа заболеваний, включают клотримазол, которые используются в комбинации с антибактериальными препаратами во избежание сопутствующих инфекций [2]. Клотримазол (CLZ) является имидазольным противогрибковым средством широкого спектра действия, используемым для лечения микозов. Более того, было заявлено, что CLZ проявляет селективную антибактериальную активность. Противогрибковая активность CLZ связана с его способностью

вмешиваться в биосинтез эргостерола, основного компонента цитоплазматической мембраны гриба, с последующим истощением эргостерола и его заменой на виды стеролов (неотъемлемые компоненты большинства клеточных мембран), нарушая, таким образом, проницаемость мембраны [3].

Патогенные грибки быстро адаптируются к известным противогрибковым препаратам. Все это делает проблему разработки новых антимикотиков весьма актуальной. Важным направлением поиска новых антимикотиков является усиление антигрибной активности уже известных соединений, в частности, клотримазола. Этого можно достичь путем синтеза новых соединений на основе клотримазола и неорганических составляющих, потенциально обладающих более сильной антигрибной активностью, чем исходные вещества.

Ранее были синтезированы новые соединения на основе клотримазола, которые проявляют фунгицидную и фунгистатическую активность в отношении патогенных дрожжеподобных грибов, являющихся распространенными возбудителями микозов. Одно из таких соединений имеет формулу $Pt(C_{22}H_{17}ClN_2)Cl_4$ и представляет собой комплексную соль на основе клотримазола и платины. Образец для исследования синтезирован и любезно предоставлен Скорик Н.А. [4].

Цель работы заключается в изучении действия прототипа нового антигрибного препарата на основе клотримазола на *Saccharomyces cerevisiae*.

Материалы и методика исследования. Поскольку данное соединение является ранее не представленным прототипом антимикотика, главной сложностью всего эксперимента является определение его подавляющей концентрации. Поэтому для экспериментов выбрана стартовая высокая концентрация образца – 5 мг/мл. Всего было протестировано 1 предварительно синтезированное соединение с антигрибной активностью. В качестве тест-системы были использованы грибки *Saccharomyces cerevisiae*. Для изучения свойств образца было применено определение антигрибной активности луночно-диффузионным методом.

Среда для культивирования дрожжей представляла собой стандартную для данных грибов – среду Сабуро, содержащую: глюкоза – 40 г/л, пептон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, агар микробиологический – 1,5-2 % от объема.

На каждую чашку Петри с 15 мл агаризованной среды Сабуро осуществлялся посев штамма дрожжей методом газона (0,1 мл суспензии клеток в концентрации $(1 \cdot 10^6)$ клеток/мл) из чистой культуры. Затем в центре чашки с помощью стерильного пробочного сверла была сделана лунка диаметром 7 мм на всю толщину слоя агара. В лунку вносилось 0,1 мл суспензии образца, приготовленной на физиологическом растворе. В качестве контроля использовался препарат клотримазол в виде фармакологической субстанции. Инкубирование производилось в термостате при температуре 30°C в течение 24 ч. После этого измерялась зона подавления роста дрожжевых грибов с точностью до 0,1 мм. Чем больше зона ингибиции роста гриба, тем выше фунгицидная активность соединения. Зоной ингибиции роста грибов считалась зона полного подавления роста колоний. Однако при этом игнорировались единичные и очень мелкие колонии грибов в зоне подавления.

Результаты. Результаты, полученные в ходе тестирования активности объекта исследования, показывают, что данное соединение обладает значительной антигрибной активностью, существенно подавляя рост и развитие *Saccharomyces cerevisiae*. При этом образуются значительные зоны подавления роста. Диаметр зон подавления роста в чашках с объектом исследования значительно больше, чем в

чашках с клотримазолом. Это было подтверждено статистически ($p < 0,001$). Различие в диаметрах зон подавления обусловлено большей антигрибной активностью объекта исследования по сравнению с клотримазолом (рисунок 1).

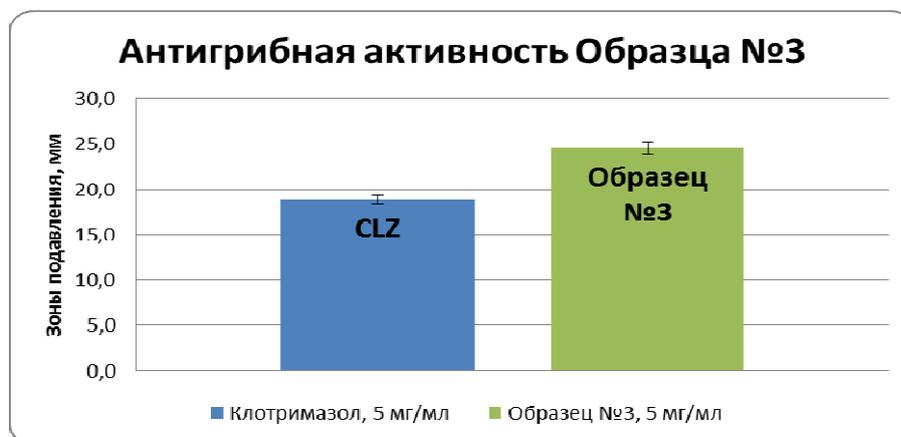


Рис. 1. Размер зон подавления роста *Saccharomyces cerevisiae* соединением на основе клотримазола ($p < 0,001$)

Заключение. Таким образом, можно заключить, что объект исследования обладает значительной антигрибной активностью, образуя существенные зоны подавления роста тест-объекта. Можно отметить, что синтез новых соединений на основе уже известных антимикотиков является перспективным направлением усиления активности подобных препаратов. Также можно предположить, что данное соединение потенциально может снижать численность или предотвращают развитие групп инфекций, вызванных грибами.

Работа выполнена в рамках научного проекта при поддержке Программы повышения конкурентоспособности ТГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taudorf E.H., Jemec G.B.E., Hay R.J., Saunte D.M.L. Cutaneous candidiasis – an evidence-based review of topical and systemic treatments to inform clinical practice // Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology. – 2019. – Vol.33, №10. – P. 1863-1873.
2. Kiakojuri K. Rajabnia R., Omran S. M., Pournajaf A., Karami M. Role of Clotrimazole in Prevention of Recurrent Otomycosis [Electronic resource] // BioMed Research International. – 2019. - URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2019/5269535/> (access date: 05.03.2020).
3. Carbone C. Fuochi V., Zielinska A. Dual-drugs delivery in Solid Lipid Nanoparticles for the treatment of Candida albicans mycosis [Electronic resource] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – Electronic data. - 2020. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776519308495> (access date: 02.03.2020).
4. Скорик Н.А. Курзина И.А., Козик В.В. Взаимодействие клотримазола с соединениями некоторых d-металлов и органическими кислотами // Синтез и свойства неорганических соединений.

**ВЛИЯНИЕ ЦИСПЛАТИНА НА МОДЕЛЬНЫЕ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ
МАКРОФАГИ**

П.С. Ямшиков¹, И.В. Ларионова^{1,2}, Е.О. Казакова¹

Научный руководитель: профессор, д.б.н. Кжышкowska Ю.Г.

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,

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

²НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН,

Россия, Томск, пер. Кооперативный, 5, 634009

E-mail: mrriamshchikovpavel@gmail.com

CISPLATIN EFFECT ON MODEL TUMOR ASSOCIATED MACROPHAGES

P.S. Iamshchikov¹, I.V. Larionova^{1,2}, E.O. Kazakova¹

Scientific Supervisor: Prof., Dr. J. Kzhyshkowska

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

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

E-mail: mrriamshchikovpavel@gmail.com

Abstract. *In the present study, we performed the in vitro study of the impact of cisplatin, well known chemotherapeutic agent, on tumor associated macrophages (TAMs). We used model system of TAMs which was obtained by the stimulation of primary monocytes with supernatants of cancer cell MCF7 (breast adenocarcinoma) and Colo206F (colorectal cancer). Cisplatin and TAMs interaction was examined through the full-transcriptome next-generation sequencing (NGS) of TAMs before and after cisplatin treatment within two different models. After sequencing, following bioinformatic analysis of obtained data was performed. Obtained results demonstrated, that TAMs after cisplatin treatment activate numerous pathways involved in tumor progression and immune response. Data analysis revealed, that TAMs in Colo206F microenvironment acquire mostly anti-tumor program while in the present of MCF7 supernatant – tumor-supporting program. This opens the prospects for the search for new markers of tumor response to chemotherapeutic drugs and immunomodulatory approaches to increase the effectiveness of chemotherapy.*

Введение. Опухлеассоциированные макрофаги (ОАМ) являются важным компонентом опухолевого микроокружения, обеспечивая опухолевый рост, метастазирование и ангиогенез, а также иммуносупрессию [1]. Существуют доказательства, что ОАМ вносят существенный вклад в эффективность химиотерапии, в частности вовлечены в процессы резистентности опухоли на терапию [2]. В качестве химиотерапевтических препаратов при лечении злокачественных новообразований, в частности рака молочной железы и рака толстой кишки, часто используют препараты с генотоксическим действием (повреждающие ДНК). Подобные препараты в том числе обеспечивают условия для активации иммунной системы по противоопухолевому пути. К таким препаратам относятся доксорубин, циклофосамид и препараты платинового ряда – карбоплатин, оксалиплатин и цисплатин [3]. Цисплатин, входящий в ряд таких препаратов, выбран в качестве модельного химиотерапевтического агента в рамках проведенного исследования. Механизм влияния химиотерапии, в частности цисплатина,

на ОАМ изучен недостаточно, в связи с чем целью настоящего исследования являлось изучение влияния цисплатина на фенотип модельных ОАМ и выявление новых механизмов отсутствия ответа опухоли на химиотерапию и механизмов, усиливающих данный эффект.

Экспериментальная часть. В качестве модельной системы для ОАМ была использована система стимуляции первичных моноцитов человека цитокином M2-поляризации IL4 и супернатантами опухолевых клеток MCF7 (аденокарцинома молочной железы) и Colo206F (карцинома кишечника человека). Цисплатин (Цисплатин-Тева, Teva Pharmaceutical Industries, Ltd., раствор для инъекций L01XA01) добавляли в концентрации 20 μM на 6-й день дифференцировки макрофагов, и ОАМ инкубировали с цисплатином в течение 3 дней. Секвенирование проводилось на приборе Illumina NextSeq500. На каждую библиотеку в среднем приходилось 20 млн прочтений (ридов). При помощи программы FGSEA (<https://www.biorxiv.org/content/early/2016/06/20/060012>) проводили обогащение по биохимическим и регуляторным путям с использованием списков генов, ранжированных по уровню экспрессии и pvalue. Для эксперимента использовали базы данных Hallmark gene sets, Reactome, KEGG. Данные визуализировали при помощи программ FGSEA и Phantasus (<https://genome.ifmo.ru/phantasus>), а также средствами среды R.

Результаты. Было обнаружено, что на транскрипционном уровне в ОАМ наблюдается активация генов, обладающих репаративной и про-воспалительной активностью, про-апоптотические гены, и подавление генов, регулирующих липидный обмен (мембранный биогенез и транспорт, сигналинг через вторичные мессенджеры, энергетический запас клетки), окислительное фосфорилирование, эндоцитоз (рисунок 1).

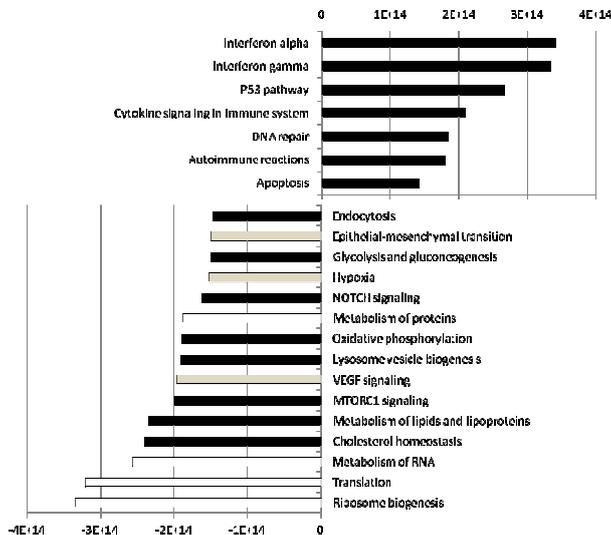


Рис. 1. Топ сигнальных путей, активированных и ингибированных в ОАМ после добавления цисплатина. Верхняя панель демонстрирует активированные пути, а нижняя панель - ингибированные пути. Черный цвет показывает транскрипты, характерные для ОАМ после добавления супернатантов как MCF-7, так и Colo206F, серый - для Colo206F и белый - для MCF-7

Кроме отмеченных общих закономерностей показаны выраженные различия в профиле ОАМ рака молочной железы и рака толстой кишки. Было обнаружено, что ОАМ рака молочной железы имеют 150 уникальных ингибированных под воздействием цисплатина транскриптов, ответственных за программы

рибосомального биогенеза, трансляцию, биосинтез и метаболизм РНК, белковый метаболизм (рисунки 1 и 2). В то же время активированные транскрипты (n=97) были в большей степени связаны с трансмембранным транспортом и рецепторной активностью. В образцах ОАМ рака молочной железы происходила активация в большей мере про-опухолевой программы, то есть поляризации в M2 макрофаги. ОАМ рака толстого кишечника имели 690 ингибированных и 818 активированных уникальных транскриптов (рисунок 2). В ОАМ рака толстого кишечника наблюдались патогенетически значимые изменения: подавляется ряд генов, являющихся про-ангиогенными, и активируется ряд ангиостатических генов, то есть запускается анти-ангиогенная программа, идет ингибирование генов, вовлеченных в эпителиально-мезенхимальный переход, гипоксию, а также подавление транскриптов, участвующих в липидном обмене, происходит более выраженное ингибирование маркеров M2 поляризации.

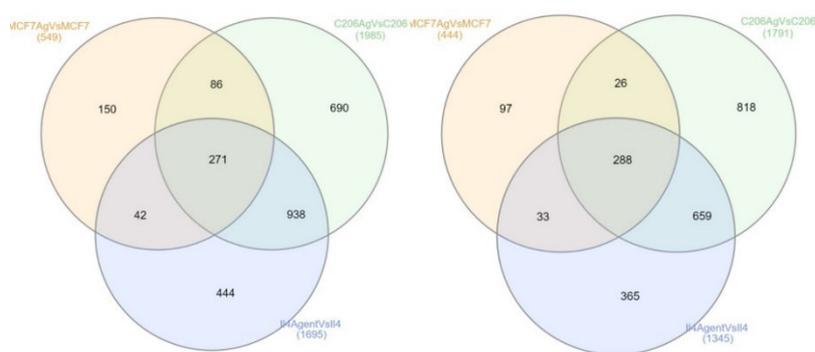


Рис. 2. Диаграммы Венна экспрессии генов ОАМ без цисплатина и после добавления цисплатина. Слева – активированные гены; справа – ингибированные гены. $p < 0,05$ и $\log_2\text{FoldChange} < 0,75$

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что в ОАМ под влиянием цисплатина задействуется множество функциональных путей, вовлеченных в опухолевую прогрессию и иммунный ответ. Однако, более ясная картина функционального перепрограммирования ОАМ под влиянием цисплатина может быть получена при анализе клинического материала. Это открывает перспективы для поиска новых маркеров ответа опухоли на химиотерапевтическое воздействие и иммуномодуляции для повышения эффективности химиотерапии.

Работа поддержана грантом РФФ №19-15-00151.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sica, A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas // J. Clin. Invest. – 2012. – Vol. 122, № 3. – P. 787-95.
2. Mantovani, A. Allavena P. The interaction of anticancer therapies with tumor-associated macrophages // J. Exp. Med. – 2015. – Vol. 212, № 4. – P. 435–45.
3. Dasari, S., & Bernard Tchounwou, P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. European Journal of Pharmacology, – 2014. – № 740. – P. 364–378.

ПРОГРАММА ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ

[САЕ «Институт «Умные материалы и технологии»](#) Национального исследовательского Томского государственного университета приглашает дипломированных специалистов пройти программу повышения квалификации

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В ПОЛУЧЕНИИ И ИССЛЕДОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Направление 04.00.00 «Химия», 72 ч.

Модульная структура обучения:

Модуль 1: Новые подходы в получении и исследовании функциональных материалов

Модуль 2: Методы исследования структуры, состава и физико-химических свойств функциональных материалов

Профессиональные компетенции, формируемые в результате обучения:

- способность проводить научные исследования по сформулированной тематике, самостоятельно составлять план исследования и получать новые научные и прикладные результаты (ПК-1);
- владение теорией и навыками практической работы в избранной области химии (ПК-2);
- готовность использовать современную аппаратуру при проведении научных исследований (ПК-3);
- способность участвовать в научных дискуссиях и представлять полученные в исследованиях результаты в виде отчетов и научных публикаций (стендовые доклады, рефераты и статьи в периодической научной печати) (ПК-4).

Обучение в рамках образовательной программы реализуют ученые с высокой научной квалификацией из ведущих научных организаций РФ и зарубежья. Практическая часть курса проводится с использованием современного аналитического и исследовательского оборудования Томского регионального центра коллективного пользования и на базе структурных подразделений [САЕ «Институт «Умные материалы и технологии»](#).

КОНТАКТЫ

Руководитель программы: Курзина Ирина Александровна, д.ф-м.н., профессор кафедры физической и коллоидной химии ХФ, директор [САЕ «Институт «Умные материалы и технологии»](#), e-mail kurzina99@mail.ru.

Координатор программы: Анищенко Юлия, менеджер учебного офиса [САЕ «Институт «Умные материалы и технологии»](#), e-mail j.anishch@gmail.com.

АДРЕС

Россия, Томская обл., 634028, г. Томск, ул. А. Иванова, 49 (химический факультет ТГУ). Запись по [ссылке](#).