

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ



Московский  
государственный  
университет  
им. М. В. Ломоносова

Материалы XX международной  
научной конференции

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ  
И ХИМИИ

БФФХ - 2025

г. Севастополь  
22-27 сентября

г. Москва  
9-12 октября



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ**

**БФФХ – 2025**

*Материалы XX международной научной конференции  
г. Севастополь, 22-27 сентября 2025 г.  
г. Москва, 9-12 октября 2025 г.*

**MODERN TRENDS IN BIOLOGICAL PHYSICS AND CHEMISTRY  
BPPC – 2025**

*Proceedings of XX International Scientific Conference  
Sevastopol, 22-27 of September, 2025  
Moscow, 9-12 of October, 2025*

Севастополь – Москва 2025

УДК 577.113:541.49

ББК

28.07

28.07 Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2025: материалы XX международной научной конференции, г. Севастополь, 22-27 сентября 2025 г., г. Москва, 9-12 октября 2025 г. – Севастополь, 2025. – 146 с.

Сборник материалов составлен по итогам XX международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2025», организованной совместно Севастопольским государственным университетом и Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова с 22 по 27 сентября 2025 г. в Севастополе и с 9 по 12 октября в Москве.

В сборнике приведены материалы научных работ, посвященных актуальным вопросам общей и молекулярной биофизики, моделирования в биофизике, биоинформатики, медицинской биофизики, биофизической химии и биофизической экологии.

Издание рассчитано на научных работников, аспирантов, студентов.

Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2025: proceedings of XX International Scientific Conference, Sevastopol, 22-27 of September, 2025, Moscow, 9-12 of October, 2025. – Sevastopol, 2025. – 146 p.

The proceedings is a compilation of the reports of XX International scientific conference "Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2025", organized by Sevastopol State University and Lomonosov Moscow State University 22-27 of September, 2025 in Sevastopol, 9-12 of October, 2025 in Moscow.

The proceedings contains materials of research papers, devoted to modern trends in general and molecular biophysics, modeling in biophysics, bioinformatics, medical biophysics, biophysical chemistry and biophysical ecology.

The publication is intended for scientists, postgraduate, students.

**ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:**

Евстигнеев Максим Павлович, проректор по научной деятельности СевГУ, профессор, д.ф.-м.н. – сопредседатель;

Твердислов Всеволод Александрович, заведующий кафедрой биофизики физического факультета МГУ, профессор, д.ф.-м.н. – сопредседатель;

Артюхов Валерий Григорьевич, д.б.н., профессор (Воронежский государственный университет, г. Воронеж);

Заседателев Александр Сергеевич, д.ф.-м.н., профессор (Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва);

Кадоchnikov Дмитрий Сергеевич, д.м.н., профессор (Севастопольский государственный университет, г. Севастополь);

Костюков Виктор Валентинович, д.ф.-м.н., доцент (Севастопольский государственный университет, г. Севастополь);

Нечипуренко Юрий Дмитриевич, д.ф.-м.н., в.н.с. (Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва);

Семёнов Константин Николаевич, д.х.н., доцент (Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург);

Ризниченко Галина Юрьевна, д.ф.-м.н., профессор (Московский государственный университет, г. Москва);

Гудимчук Никита Борисович, д.ф.-м.н., (Московский государственный университет, г. Москва);

Эрнандес Сантьяго Адриан Аполинар, д-р философии (Автономный университет, г. Пуэбла, Мексика);

Яковенко Леонид Владимирович, д.ф.-м.н., профессор (Московский государственный университет, г. Москва).

**PROGRAM COMMITTEE:**

Evstigneev M.P., Vice-rector for Scientific Activity, Professor, Ph.D. (Sevastopol State University) – co-Chairman;

Tverdislov V.A., Head of the Department of Biophysics, Faculty of Physics, Professor, Ph.D. (Moscow State University) – co-Chairman;

Artyuhov V.G., Head of Department, Professor, Ph.D. (Voronezh State University);

Gudimchuk N.B. Ph.D. (Moscow State University);

Hernandez Santiago A.A., Ph.D. (Autonomous University, Puebla, Mexico);

Kadochnikov D.S. – Head of Department, Professor, Ph.D. (Sevastopol State University);

Kostyukov V.V. –Professor, Ph.D. (Sevastopol State University);

Nechipurenko Yu.D., Ph.D., Senior Researcher (Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences);

Riznichenko G.Yu., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Semenov K.N., Professor, Ph.D. (First Saint Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov);

Yakovenko L.V., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Zasedatelev A.S., Professor (Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences).

## СОДЕРЖАНИЕ

### СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

<b>А.С. Бескудрова, А.Э. Сидорова, А.А. Пантелеев</b> Клеточная динамика эпидермиса кожи человека в контексте распределения кислорода.....	13
<b>А.В. Брильков, Е.В. Брилькова, А.А. Суханова</b> Влияние экспрессии клонированных генов на удельную скорость роста и энергетические траты трансгенных бактерий.....	14
<b>Е.В. Брилькова, С.Н. Сырцов, А.А. Суханова</b> Влияние изотиоцианатов (ИТЦ) на рост и развитие гриба <i>Fusarium solani</i> .....	14
<b>В.В. Галанин</b> Исследование автомодельности в системе двух биологических нейронов, связанных посредством химического синапса.....	15
<b>Н.Ю. Герасимов, О.В. Неврова, И.В. Жигачева, И.П. Генерозова, А.Н. Голощапов</b> Изменение структуры липидного бислоя мембран митохондрий эпикотилей проростков гороха в условиях засухи и введения донора NO .....	16
<b>А.А. Губарев, В.Н. Павлов, Ю.А. Легенький, С.В. Беспалова</b> Зависимость минимального диаметра транспорта магнито маркированных клеток над пленкой с полосовой доменной структурой от величины амплитуды нормальной компоненты магнитной индукции внешнего поля .....	17
<b>А.А. Ефимов, И.С. Проскуркин, А.И. Лаврова</b> Модель памяти на основе сети импульсно связанных химических осцилляторов .....	18
<b>Э.А. Касумов, Р.Э. Касумов, И.В. Касумова</b> Митохондриально-аргининовая теория старения .....	19
<b>В.А. Кратасюк, Е.Н. Есимбекова, А.М. Оюн, Е.М. Колосова, Д.Е. Чуяшенко, Е.Я. Мучкина, О.С. Сутормин</b> Биолюминесцентные ферментативные биотесты для экологического мониторинга.....	20
<b>В.С. Клочкова, А.Б. Боровков</b> Расчёт концентрации фотосинтетических пигментов по оптической плотности в культуре <i>Porphyridium purpureum</i> .....	21
<b>А.И. Лаврова, А.С. Ванина, Д.А. Сафонов, Е.Б. Постников</b> Моделирование распространения маркеров при нарушении гематоэнцефалического барьера с использованием коллагенового гидрогелевого фантома .....	22
<b>В.И. Лобышев</b> Агрегационная флуоресценция – новый вид люминесценции .....	23
<b>А.И. Майков, П.Е. Болтовская</b> Новый метод борьбы с вредными клетками.....	24
<b>И.Л. Мальфанов, И.С. Проскуркин, А.В. Сычев, А.И. Лаврова</b> Хемомеханический автоколебательный гель, приводимый в движение окислительно-восстановительными колебаниями комплекса железа с терпиридином .....	24
<b>О.В. Неврова, Н.Ю. Герасимов, И.В. Жигачева, И.П. Генерозова, А.Н. Голощапов</b> Сероводород и защитный ответ эпикотилей проростков гороха в структуре мембран митохондрий при стрессовом недостатке воды .....	25

<b>А.Б. Никифорова, М.Е. Соловьева, М.В. Акуленко, В.Н. Афанасьев, Е.С. Харечкина, А.Г. Круглов</b> Механизм рассогласования эмиссии АФК разных типов митохондриями: возможная физиологическая роль .....	26
<b>А.Г. Погорелов, А.И. Панант, А.А. Станкевич, Н.О. Патласов, В.Н. Погорелова</b> Неферментативный гидролиз полисахаридов в клетке .....	27
<b>А.Д. Подгурская, К.И. Агладзе</b> Метод получения первичных кардиомиоцитов из неонатальных мышей .....	27
<b>И.С. Проскуркин, А.А. Ефимов, Д.А. Сафонов, И.Л. Мальфанов, А.И. Лаврова</b> Нейроморфное химическое устройство на основе реакции Белоусова-Жаботинского .....	28
<b>И.И. Ращенкова, Я.В. Мегер, А.О. Лантушенко</b> Исследование внутриклеточного распределения аптамера в нормальных и раковых клетках с помощью конфокальной микроскопии .....	29
<b>Н.А. Роденко, О.В. Бледных, Т.И. Васильева, Р.Р. Кияметдинова</b> Импульсное магнитное поле высокой напряженности как альтернативный метод снижения жизнеспособности микроорганизмов <i>Escherichia coli</i> M-17 и <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	30
<b>В.В. Рощина, С.А. Богун, А.А. Абушин</b> Применение спектральных методов для поиска азulen-содержащих растений аридной зоны Калмыкии .....	31
<b>Е.А. Сапельников, А.Э. Сидорова, М.Н. Устинин</b> Метод эмпирической оценки хиральности объектов материального мира .....	32
<b>Д.А. Сафонов, И.С. Проскуркин, И.Л. Мальфанов, А.И. Лаврова</b> Исследование односторонней проходимости автоволн в асимметричных возбудимых средах на основе реакции Белоусова-Жаботинского .....	33
<b>О.Д. Смирнова, И.В. Калашникова</b> Роль везикул в эволюции .....	34
<b>В.А. Твердислов</b> Биологические молекулярные машины .....	35
<b>Л.Е. Фоменко, Г.А. Сухов</b> Использование ультразвука для борьбы с онкологическими заболеваниями .....	35
<b>А.В. Халывкин</b> Феноменология физики живых систем и математическая танатология о причинах старения и особенностях возрастной динамики риска смерти от рака .....	36
<b>Д.Н. Чернышев, В.С. Ключкова, О.С. Завьялова</b> Модель спектра поглощения культуры <i>Porphyridium purpureum</i> с дополнительным пиком в области 700 нм .....	37
<b>Д.Н. Чернышев, В.С. Ключкова, Т.М. Новикова</b> Декомпозиция спектра поглощения криптофитовой водоросли <i>Rhodomonas salina</i> .....	38
<b>Д.Н. Чернышев, А.Р. Осокин, Ю.О. Веляев, И.В. Дегтяр, А.О. Лантушенко</b> Применение математического моделирования для дополнительной идентификации пигментов, разделённых методом ВЭЖХ-ФЛД .....	39
<b>Е.В. Шупова, А.С. Замрий</b> Кондуктометрическое исследование ассоциации биологически активных соединений .....	40
<b>В.О. Ясюк, И.В. Гостева</b> Самоорганизация в системе связанных парвальбумин-позитивных интернейронов миниколонки неокортекса с аутопсами .....	41

## СЕКЦИЯ 2. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА

<b>Г.А. Агаева, У.Т. Агаева, Н.М. Годжаев</b> Пространственное и электронное строение анти-микробного тетрапептида WRWR .....	42
<b>Л.Н. Агаева, Л.И. Исмаилова, Н.А. Ахмедов</b> Трёхмерная структура синтетического пентапептида LKEKK .....	43
<b>А.С. Бучельников</b> Калориметрическое исследование роли гидрофобного эффекта в реакциях самоассоциации ароматических биологически активных соединений .....	44
<b>В.Д. Василевская, И.А. Лифшиц, Е.С. Хотлубей, Н.К. Ратманова, И.А. Андреев, И.В. Трушков, О.А. Иванова, Н.Б. Гудимчук</b> Разработка новых флуоресцентных методик для определения лигандов колхицинового сайта тубулина .....	45
<b>А.Ю. Верисокин, Д.В. Вервейко, П.Р. Иванова</b> Моделирование роли нейромодуляторов в работе нейроглиоваскулярной единицы .....	46
<b>Д.А. Гвоздев, В.Р. Гудкова, В.В. Нестерова, А.Д. Любанская, Г.В. Цораев</b> Функциональное состояние металлофталоцианинов, адсорбированных на поверхность наноалмазов и углеродных наноточек .....	47
<b>Ю.М. Горовой</b> Описание молекулярного распознавания в биологических супрамолекулярных системах методами статистической физики сложных систем .....	47
<b>Е.А. Гребнева</b> Механизм образования редких таутомеров оснований ДНК при облучении од-ноцепочечной ДНК ультрафиолетовым светом .....	49
<b>Н.Б. Гудимчук, В.В. Александрова, В.А. Фёдоров, Е.Г. Холина, И.Б. Коваленко, Ф.И. Атауллаханов</b> От молекул до клеток: компьютерное моделирование динамики микро-трубочек .....	50
<b>Э.Б. Душанов, С.В. Аксёнова, Я.К.Д. Родригез, С.В. Демидов</b> Исследование взаимодей-ствия борсодержащих препаратов с клеточной мембраной .....	51
<b>М.П. Евстигнеев, А.О. Лантушенко, А.Д. Дегтяр, А.В. Гаджи</b> Статистико-термодинами-ческая теория гидрофобного эффекта – новый подход .....	51
<b>М.Х. Зелеев, С.И. Хажина, Г.Т. Закирьянова, Р.Р. Шагапов, Л.В. Спирихин</b> Квантово-механическое моделирование механизма биологической активности молекулы кверцетина .....	52
<b>И.В. Ивлиева (Перетокина), А.А. Мещерякова, Л.М. Бабков, В.В. Сорокин</b> Структурно-динамические модели и ИК спектры хроменопиридинов, реализованных в виде таутомерных смесей .....	53
<b>Л.И. Исмаилова, С.Р. Ахмедова, Н.А. Ахмедов</b> Сравнительный анализ трёхмерных структур октапептидного и нонапептидного нейропептидов .....	54
<b>А.М. Каргатов</b> Новый структурный мотив: комбинация $\beta$ -шпильки и четырёхтяжевого $\beta$ -листа .....	55
<b>Н.А. Ковалева, И.А. Ильичева</b> Связь между специфичностью к последовательности ультра-звукового расщепления ДНК и динамикой сахарного кольца .....	56
<b>Е.В. Коротков</b> Геномы бактерий имеют внутреннее форматирование .....	57

<b>G.H. Kocharyan, P.O. Vardevanyan</b> Multimodal interaction of selected flavonoids with DNA.....	58
<b>С.А. Кузьмичев</b> Некоторые термодинамические особенности регуляции процессинга пиРНК в соматических клетках у мыши .....	59
<b>И.Н. Левченко, В.С. Панкратов, А.И. Бакаева, А.А. Левченко, Е.В. Машковцева, Е.Ю. Макаренко, А.А. Липенгольц</b> Разработка компьютерной программы для автоматизированного анализа научных статей при конструировании лекарственных препаратов .....	60
<b>И.Н. Левченко, В.С. Панкратов, Г.К. Владимиров, А.А. Левченко, И.В. Володяев</b> Изучение структуры порфиринового кольца в составе гетерогенного катализатора. хемилюминесценция, активируемая кумаринами C <sub>525</sub> , C <sub>314</sub> и C <sub>334</sub> под действием цитохрома с с кардиолипидом .....	60
<b>А.О. Луценко, А.Э. Сидорова</b> Метод вычисления хиральности суперспиралей и $\beta$ -листов белков .....	61
<b>Я.В. Мегер, А.О. Лантушенко</b> Сравнение перспективных молекулярных маркеров среди генов митохондриального генома для рода <i>Artemia</i> .....	62
<b>О.В. Мещерякова, М.А. Богданов, А.В. Ефимов</b> Термостабильность коллагенов теплокровных и хладнокровных организмов: влияние аминокислотного состава и последовательности аминокислот .....	63
<b>Е.В. Назарьев, Б.А. Мишунин, И.Л. Пластун</b> Исследование межмолекулярного взаимодействия аминокислотных цепей рецептора и лиганда фактора некроза опухоли.....	64
<b>Ю.Д. Нечипуренко, К.А. Угрюмов, Е.О. Василенко</b> Аллостерический эффект при связывании лигандов на ДНК: история и будущее .....	65
<b>Н.В. Пеньков</b> Динамические гидратные оболочки биомолекул .....	66
<b>В.М. Руденко, Е.В. Коротков</b> Анализ высокодивергированных дисперсных повторов: ключ к пониманию структуры генома риса.....	66
<b>Т.В. Руденко, В.П. Демкин, А.А. Печерицын, В.В. Удут, А.А. Ахметова, Л.В. Смаглий</b> Исследование механизмов стабилизации объема эритроцита на основе математического моделирования ионной проводимости мембраны .....	67
<b>Н.Н. Тимченко, Е.В. Шупова</b> Влияние замораживания-оттаивания на взаимодействие гемоглобина с БТС .....	68
<b>С.В. Филиппов</b> Картографирование поверхности домена холодового шока: Часть 1. Определение единого конформационного пространства для CSD-гомологов из разных таксономических групп .....	70
<b>Е.А. Харьковина, А.В. Ефимов</b> Аминокислотные и конформационные шаблоны структурных мотивов $\beta$ -белков.....	71
<b>М.Г. Холявка, С.С. Гончарова, В.Г. Артюхов</b> Различные стратегии ковалентной иммобилизации цистеиновых протеаз: фицина, папаина и бромелина.....	72
<b>Ю.Н. Чиргадзе, Е.В. Бражников, И.В. Лихачев, Н.К. Балабаев</b> Исследование молекулярной динамики структурного мотива $\alpha$ -спиральной шпильки в составе белка S16 из <i>Thermus thermophilus</i> .....	73
<b>Д.К. Шпигун, П.А. Левашов, А.Э. Сидорова</b> Связь между хиральностью и термостабильностью фермента лизоцима .....	74



<b>А.Г. Яковлев, А.С. Таисова</b> Внутримолекулярная фемтосекундная конверсия энергии в хлоросомах фотосинтезирующих бактерий <i>Chloroflexus aurantiacus</i> .....	75
<b>Е.Г. Яшина, Е.Ю. Варфоломеева, Р.А. Пангина, Р.А. Ковалев, Н.Д. Федорова, Ю.Е. Горшкова, С.В. Григорьев</b> Исследование структурной организации хроматина в ядрах опухолевых клеток методом малоуглового рассеяния нейтронов и рентгеновского излучения .....	76

### СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

<b>С.А. Абдуллаев, М.В. Душенко, Д.В. Фомина</b> Митохондриальные нарушения в различных тканях мышей, подвергнутых локальному облучению головного мозга.....	77
<b>Е.Л. Антипин</b> Статокинезиметрическое исследование «столбового» состояния.....	79
<b>В.Г. Артюхов, М.А. Наквасина, М.Г. Холявка</b> Исследование модулирующего действия кверцетина и куркумина на лимфоциты человека в условиях УФ-облучения.....	79
<b>А.А. Ахметова, В.П. Демкин, А.Ю. Фальковская</b> Пол-специфические особенности взаимосвязей реологических свойств крови, факторов гемостаза и метаболических показателей у пациентов с неконтролируемой артериальной гипертензией .....	80
<b>А.О. Багаева, Е.Г. Чупахин</b> Синтез малых интерферирующих РНК для регуляции экспрессии тау-киназы ТТВК1.....	81
<b>А.С. Барашкова, О.С. Остроумова, С.С. Ефимова, Е.А. Рогожин</b> Подходы к изучению молекулярного механизма антифунгального действия защитного пептида структурной группы тионинов из семян нигеллы посевной ( <i>Nigella sativa</i> ) .....	82
<b>Н.Е. Беликов, О.В. Демина, А.Ю. Лукин, С.Д. Варфоломеев, А.А. Ходонов</b> Влияние солей металлов на оптические свойства нового фотохромного хелатофора .....	83
<b>Г. Бенчак, К.С. Бразовский</b> Твердофазносpectрофотометрическое определение синтетических пищевых красителей в смесях с использованием метода проекции на латентные структуры .....	84
<b>Т.Н. Богатыренко, Н.В. Кандалинцева, А.В. Акимов, Т.Е. Сашенкова, У.Ю. Аллоярова, Д.В. Мищенко</b> Роль редокс-активных соединений на изменение активности противоопухолевых цитостатиков .....	85
<b>А.В. Бородина, К.А. Пименов, Ю.О. Веляев</b> Липиды тканей <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791) в начале годового цикла моллюска.....	86
<b>А.С. Ботин, А.Ю. Аринбасарова, А.Г. Меденцев, Е.П. Грицай, А.В. Кордова-Торрес</b> Элементы конструирования новых штаммов микроорганизмов методами генетической инженерии.....	87
<b>В.С. Бурдаков, Н.А. Верлов</b> Радиорезистентные клеточные линии как перспективная модель для изучения множественной лекарственной устойчивости.....	88
<b>Е.В. Бутенко, Е.М. Бакурова</b> Риски применения метформина в комплексной терапии рака молочной железы.....	89

<b>Н.А. Верлов, В.С. Бурдаков, С.Б. Ланда, В.Л. Эмануэль</b> Биофизические подходы к определению уромодулина .....	90
<b>Н.Д. Гончарова</b> Нейроэндокринные системы при старении: индивидуальные особенности, влияние постоянного освещения .....	90
<b>Г.В. Горина, О.В. Литвинова, Л.В. Смаглий, М.В. Светлик, Р.М. Тахауов, А.Р. Тахауов, С.А. Каширина, Е.А. Нетесова</b> Прогнозирование развития острого инфаркта миокарда у лиц, подвергшихся хроническому воздействию малых доз ионизирующего излучения .....	92
<b>И.В. Дегтяр, Ю.О. Веляев, А.Р. Осокин, А.О. Лантушенко</b> Анализ состава жирных кислот у <i>Dunaliella salina</i> , синтезируемых под воздействием различных стрессовых факторов .....	93
<b>О.В. Демкин, А.О. Лобанова, О.А. Новикова, Т.В. Руденко, В.В. Удут</b> Совершенствование диагностики системы гемостаза человека.....	94
<b>А.Н. Дубовицкая, М.Г. Холявка, А.В. Сорокин, М.С. Лавлинская, В.Г. Артюхов</b> Хитозан и N-(2-гидрокси)пропил-3-триметиламмоний хитозан как перспективные гемостатические агенты .....	95
<b>М.В. Душенко, С.А. Абдуллаев, А.Н. Осипов</b> Повреждение митохондриального генома в мезенхимальных стволовых клетках после воздействия рентгеновского излучения в малой и средней дозах .....	96
<b>Е.А. Зайцева, К.С. Бразовский, Е.В. Плотников, И.П. Шарычев</b> Построение алгоритма оценки жизнеспособности опухолевых клеток на основе широкополосной электроимпедансной спектроскопии .....	97
<b>К.Д. Казаринов, И.Г. Полников</b> Изучение механизма эффективности использования микроволнового излучения в фармакологическом производстве .....	98
<b>И.В. Клименко, Е.А. Трусова, А.В. Лобанов</b> Новый супрамолекулярный комплекс на основе фталоцианина алюминия и бескислородного графена для биомедицинских приложений .....	99
<b>С.Б. Ланда, Р.А. Пантина, В.С. Бурдаков, Е.Ю. Варфоломеева, В.Ю. Байрамуков, Н.Д. Федорова, Н.А. Верлов</b> Взаимосвязь экстраклеточных частиц (EPs) с метаболизмом холестерина.....	100
<b>В.Н. Лесных, А.В. Елистратов, В.А. Коломбет</b> Программа для обработки итога сканирования мышления цепным вербальным тестом .....	101
<b>Н.П. Лехтлаан-Тыниссон, В.И. Один</b> Возможности оригинального метода «Обратная волна» .....	102
<b>О.В. Литвинова, Г.В. Горина, Л.В. Смаглий, М.В. Светлик, Р.М. Тахауов, Л.Р. Тахауова, В.Р. Латонов, И.М. Шумилов</b> Прогнозирование развития рака лёгких у лиц, подвергшихся хроническому воздействию малых доз ионизирующего излучения .....	103
<b>Е.А. Максимова, В.И. Шевченко, С.Н. Савинкин, К.С. Краснов, А.С. Сенотов, В.С. Акатов</b> Анализ изменений показателей крови для оценки эффективности изометрических упражнений в ранней реабилитации пожилых пациентов после эндопротезирования тазобедренного сустава .....	104
<b>Д.И. Медведева, Г.И. Морозова, Ю.П. Рыбаков</b> К механизму неспецифической стимуляции лимфоцитов: модель реакции тимокитов на эритропоэтин с участием митохондриального электрокабеля.....	105
<b>А.В. Мельницкая, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, М.А. Бельтов</b> Соединение СК-0944666 ослабляет стимулирующий эффект глутоксима на транспорт $\text{Na}^+$ в эпителии кожи лягушки.....	106

<b>Л.С. Миленина, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая, М.А. Бельтов</b> Соединение (+)-SKF-10047 подавляет депозависимый вход $\text{Ca}^{2+}$ , вызываемый тапсигаргином, в макрофагах .....	107
<b>О.А. Могильная, Н.О. Ронжин, Е.Д. Посохина, В.С. Бондарь</b> Супрамолекулярный комплекс на основе оксигидроксида алюминия и флуоресцентных маркеров.....	108
<b>М.Д. Москвитин, Л.М. Бабков, А.В. Ларионов</b> Конформационные цис- и транс- переходы в ИК спектрах бегеновой кислоты.....	109
<b>М.А. Наквасина, М.Г. Холявка, В.Г. Артюхов</b> Исследование механизмов цитопротекторного действия ресвератрола и циклоастренола на лимфоциты человека .....	110
<b>Э.С. Нерсисян, И.В. Клименко, А.В. Лобанов</b> Фотохимические свойства супрамолекулярных систем на основе димерных производных $\beta$ -циклодекстрина и тетрафенилпорфирина.....	111
<b>М.Н. Плешкова, Ю.А. Черных, Д.Ю. Вандышев, С.С. Антипов</b> Проектирование и оценка физико-химических параметров флуоресцентных красителей на основе азолотриазиннов.....	112
<b>Н.Д. Преображенский, А.Е. Сидоров, М.М. Фатеев, В.В. Порсева</b> Динамические изменения скаттерограммы сердечного ритма в условиях гемодинамического отека легких у крыс .....	113
<b>А.А. Прокопов, А.М. Фулова</b> Экспериментальная эрозия зубов в свете рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) .....	114
<b>Е.В. Проскурнина, М.М. Созарукова, Е.С. Ершова, Е.А. Савинова, Л.В. Каменева, Н.Н. Вейко, В.К. Иванов, С.В. Костюк</b> Цитотоксичность и генотоксичность стабилизированного мальтодекстрином наноразмерного диоксида церия.....	115
<b>М.В. Пустовалова, В.Д. Некрасов, А.К. Чигасова, Е.В. Андреев, И.Н. Фадейкина, С.В. Леонов, А.Н. Нечаев, А.Н. Осипов</b> Радиосенсибилизация клеток рака молочной железы MDA-MB-231 и MCF7 с помощью наночастиц серебра и золота, стабилизированных $\beta$ -циклодекстрином и цитратом натрия.....	116
<b>Л.А. Ромодин, А.А. Московский, О.В. Никитенко, Т.М. Бычкова, Е.С. Челарская</b> Рибоксин (инозин) как защитное средство при внешнем воздействии ионизирующего излучения.....	117
<b>А.Ю. Рындин, П.А. Мутовкин, И.И. Рашенкова, А.Д. Дегтяр, А.А. Мосунов</b> Микромеханические свойства клеток HeLa – исследование методом атомно-силовой спектроскопии.....	118
<b>Ю.А. Сирюк, В.В. Кононенко, Р.А. Капшуков, Ю.А. Легенький</b> Влияние фазовых переходов на транспортировку магнитных биоклеток в пленке феррита-граната .....	119
<b>О.В. Слатинская, Г.В. Максимов</b> Влияние фотосенсибилизаторов на кислород-транспортную функцию эритроцитов.....	120
<b>Л.В. Смаглий, М.В. Светлик, В.П. Демкин, Т.В. Руденко</b> Физико-математическое моделирование электрической стимуляции волосковых клеток отолитовых органов .....	120
<b>И.В. Сюсин, Д.А. Гришин, В.В. Ревин</b> Исследование действия кониина на физико-химические свойства нервной ткани при повреждении.....	121
<b>Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, И.В. Тарасова, А.А. Кубрикова, И.Д. Стражеско, О.Н. Ткачева, А.Н. Осипов</b> Модифицированный ишемией альбумин как маркер оксидативного стресса при старении .....	122
<b>Н.А. Торхов, И.И. Рашенкова, А.О. Лантушенко</b> Исследование микромеханических свойств клеток меланомы «Clone M-3» методами атомно-силовой микроскопии .....	123

<b>М.Н. Устинин, А.И. Бойко, С.Д. Рыкунов</b> Возрастные изменения электрической активности мозга человека .....	124
<b>H. Hernandez Jimenez, E. Campos Cobos, A. Morales Marco, R. Agustin Serrano, B. Zenteno Mateo, A.A. Hernandez Santiago</b> Mathematical modeling of biodegradation processes in a biodegrader: biodigestion stages dynamics.....	125
<b>А.Э. Хлынова, Л.Е. Шимолина, Н.И. Игнатова, И.Н. Дружкова, М.К. Куимова, М.В. Ширманова</b> Оценка микровязкости мембран клеток колоректального рака, отличающихся миграционной активностью, с использованием FLIM микроскопии и молекулярного ротатора BODIPY2.....	125
<b>Ю.А. Черных, М.Н. Плешкова, Д.Ю. Вандышев, С.С. Антипов</b> Оценка потенциальной специфичности красителей на основе азолотриазинов к биомакромолекулам.....	126
<b>О.П. Чжу, Д.Э. Аравиашвили, Н.С. Руденко, И.И. Маринич</b> Оценка показателей состояния антиоксидантной системы как инструмент для понимания процессов старения .....	127
<b>Д.А. Шабанова, О.В. Крюкова, А.В. Тюменцева, Н.Г. Максимов, С.В. Столяр</b> Определение методом ЭПР металлсодержащих молекул в суспензии асцитной карциномы Эрлиха после криоконсервации.....	128
<b>Н.В. Яглова, С.С. Обернихин, Е.П. Тимохина, В.В. Яглов, С.В. Назимова, Э.С. Цомартова, М.Ю. Иванова, Е.В. Черешнева, Т.А. Ломановская, О.В. Паюшина, Д.А. Цомартова</b> Изменения морфодинамических процессов в тимусе при постепенном уменьшении поступления дейтерия в организм .....	129
<b>Ю.Н. Ягудина, Д.А. Салимова, Д.Л. Мельникова, О.И. Гнездилов, Р.С. Гиматдинов</b> Латеральная диффузия молекул ассоциированных с мембраной тени эритроцитов по данным ядерного магнитного резонанса с импульсным градиентом магнитного поля .....	130

#### СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

<b>В.А. Абдрахманова, А.Т. Ишемгулов, О.К. Давыдова</b> Фотодинамическая инактивация биоплёнок <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : роль бактериального пигмента.....	132
<b>А.В. Головин, А.С. Бучельников, Н.А. Моисеева, Т.Я. Чурилова</b> Биооптические исследования вод черного моря после разлива мазута в декабре 2024 года.....	133
<b>С.А. Горбачев</b> Синтез и фотокаталитические свойства нанокомпозита на основе хитина и диоксида титана для очистки водных сред от органических соединений .....	133
<b>Л.А. Иванова, А.Е. Баранчиков, Ю.Е. Горшкова, Н.А. Верлов, А.А. Кульминская, Д.В. Лебедев</b> Структурное разнообразие осадков CaCO <sub>3</sub> при бактериальной биоминерализации: влияние ДНК различного происхождения.....	134
<b>Э.А. Иванова</b> По пути овчинникововской биофизической экологии «к тайнствам живого... в природу, к белку» .....	135
<b>Д.В. Острых, А.В. Кузнецов</b> Биообрастание микропластика: от экспериментов к модели осаждения .....	136
<b>И.С. Пеппин, Н.К. Ревков, Е.Л. Неврова, А.В. Кузнецов</b> Акустическое воздействие на биообрастание предметных стекол в резервуарах с морской водой .....	137

<b>С.А. Пионтковский, А.В. Мельник, Ю.А. Загородняя, Ю.Г. Артемов</b> Биофизические характеристики экосистемы крымского шельфа .....	138
<b>С.И. Рубцова, Н.А. Андреева</b> Санитарно-микробиологическое состояние поверхностных и питьевых вод и современные методы контроля .....	139
<b>К.А. Рыбакова, А.В. Кузнецов</b> Моделирование автоволновых процессов в сообществе планктонных организмов с помощью реакции Белоусова-Жаботинского .....	141
<b>А.А. Солдатов, А.Г. Рокотова, Т.А. Кухарева, В.Н. Рычкова</b> Развитие гипохромной анемии на ранних стадиях развития кефали-сингиля ( <i>Chelon auratus</i> Risso, 1810) .....	142
<b>Н.В. Шадрин, М.Н. Григорьев, А.Д. Мутин, Е.П. Щапова, В.К. Помазкин, Ю.А. Широкова, Е.В. Ануфриева</b> Подледная динамика кислорода и температуры в малом лесном озере (Прибайкальский национальный парк): роль абиотических и биотических факторов .....	143

## СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

### КЛЕТОЧНАЯ ДИНАМИКА ЭПИДЕРМИСА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В КОНТЕКСТЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОРОДА

#### Cellular Dynamics in Human Skin Epidermis in The Context of Oxygen Distribution

Бескудрова А.С.<sup>1,2</sup>, Сидорова А.Э.<sup>1</sup>, Пантелеев А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

<sup>2</sup> Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, г. Москва, РФ

*alexbes17@yandex.ru, sky314bone@mail.ru, a.a.pantel@gmail.com*

Эпидермис – внешний эпителиальный слой кожи человека, поддерживающий её барьерную функцию. Функционирование эпидермального барьера осуществляется благодаря координации клеточной активности, которая включает деление клеток в базальном слое эпидермиса (приток клеток) и их дифференцировку с последующей кератинизацией и отшелушиванием клеток супрабазальных слоёв (отток клеток). Координация осуществляется при помощи гомеостатических механизмов, многие аспекты которых до сих пор не ясны. При этом нарушение гомеостаза приводит к таким патологиям как псориаз, атопический дерматит и различные виды неоплазий, поэтому актуальной задачей является выявление факторов, координирующих вышеописанные процессы и их применение при терапии кожных патологий.

Нами было предположено, что одним из ключевых регуляторов гомеостаза является кислород. Кислород – неполярная и легкорастворимая в липидных мембранах молекула, поэтому считается, что он способен проникать во все структуры ткани. Также известно, что различные уровни внешнего кислорода оказывают различное влияние на клеточную активность (при этом это влияние отлично для клеток различных тканей). И, так как характерное время распространения кислорода в коже (несколько минут) существенно меньше характерного времени изменения функционального состояния кератиноцита (от нескольких часов для пролиферации до нескольких дней для дифференцировки), а концентрацию кислорода во внешней среде (160 мм.рт.ст.) и в сосудах можно считать сравнительно стабильной, кислород является хорошим кандидатом на роль внешнего регулятора и стабилизатора гомеостатических механизмов.

Исследования показывают, что парциальное давление кислорода в коже может изменяться от 1 до 21 % [1], что существенно влияет на пролиферативную и дифференцировочную активность кератиноцитов [2, 3]. Таким образом, мы предположили, что неравномерное распределение кислорода, возникающее в следствие сложной гетерогенной структуры эпидермиса, может влиять на распределение функциональных групп кератиноцитов (определять положение стволовых клеток), а следовательно, и на поддержание баланса притока и оттока клеток. В качестве основы для расчёта распределения кислорода в коже были использованы модели Ванга [4] и Гроссмана [5].

В результате было рассчитано парциальное давление кислорода в области вершины дермальной папиллы и в области межпапиллярного гребня, а также сделаны выводы о возможной роли градиентов кислорода в контроле функциональной активности кератиноцитов в различных областях эпидермиса.

1. Chettouh-Hammas N., Grillon C. Physiological skin oxygen levels: An important criterion for skin cell functionality and therapeutic approaches // *Free Radical Biology Medicine*, 2024, vol. 222, pp. 259-274. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2024.06.015.

2. Ngo M.A., Sinitsyna N.N., Qin Q., Rice R.H. Oxygen-dependent differentiation of human keratinocytes // *Journal of investigative dermatology*, 2007, vol. 127, no. 2, doi: 10.1038/sj.jid.5700522.

3. Koh R., Szeverenyi I., Lee B. et al. Oxygen-Mediated Control of the Keratinocyte Proliferation-Differentiation Axis // *Journal of investigative dermatology*, 2020, vol. 140, no. 1, doi: 10.1016/j.jid.2019.05.030.

4. Wang W. Oxygen partial pressure in outer layers of skin: simulation using three-dimensional multilayered models // *Microcirculation*, 2005, vol. 12, no. 2, pp. 195-207, doi: 10.1080/10739680590905062.

5. Grossmann U. Simulation of combined transfer of oxygen and heat through the skin using a capillary-loop model // *Mathematical Biosciences*, 1982, vol. 61, no. 2, doi: 10.1016/0025-5564(82)90004-9.

## ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ КЛОНИРОВАННЫХ ГЕНОВ НА УДЕЛЬНУЮ СКОРОСТЬ РОСТА И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ТРАТЫ ТРАНСГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

### Influence of Expression of Cloned Genes on the Specific Growth Rate and Maintenance of Transgenic Bacteria

Брильков А.В., Брилькова Е.В., Суханова А.А.

Сибирский государственный университет науки и технологий им. ак. М.Ф. Решетнева, г. Красноярск, РФ  
abrilkov5@mail.ru, evmorbril@mail.ru, shumilova.ann@mail.ru

Работа посвящена прогнозированию сохранения и распространения генетически модифицированных микроорганизмов (ГМО) в различных природных экосистемах и, в целом, экологических последствий интродукции при различном уровне экспрессии клонированных генов биолуминесценции морских светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* в *Escherichia coli* [1, 2]. В нашем исследовании для решения этой задачи использовались трансгенные штаммы бактерий, содержащие плазмиды с клонированными генами биолуминесценции (*Lux*) и зеленого флуоресцентного белка (GFP), уровень экспрессии которых легко контролируется [2].

В отношении количественного метода оценки энергетических затрат на поддержание плазмид и клонированных генов трансгенных микроорганизмов сложилась парадоксальная ситуация. Ставший уже классическим метод оценки затрат энергии на поддержание Перта при культивировании в хемостате при низких скоростях потока среды здесь не подходит, поскольку плазмидсодержащие трансгенные штаммы нестабильны при этом и быстро вытесняются бесплазмидными [2].

Хотя обычно присутствие плазмид, содержащих клонированные гены, снижает удельную скорость роста трансгенных бактерий, при длительном росте бактерий в неселективных условиях (так называемая «экспериментальная эволюция», 20–30 или более поколений исходной формы) «стоимость приспособленности» снижается на порядок-два. Это, например, хорошо показано на плаزمидях резистентности к антибиотикам у клинических изолятов, причем трансгенные штаммы содержали как конъюгативные, так и неконъюгативные плазмиды с необходимыми делециями оперонов, при разных температурах, в новых штаммах бактерий, при интеграции клонированных генов из плазмид в хромосомы, при «компенсаторных мутациях», в новом сообществе организмов, куда встраивался трансгенный штамм бактерий, при разной копийности и уровне экспрессии клонированных на плазмидях генов биолуминесценции морских светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* в трансгенных бактериях *Escherichia coli* и т. д. [2].

Экспрессия клонированных генов влияет на скорость размножения бактерий и, следовательно, на их приспособленность и, таким образом, ее необходимо обязательно учитывать в процессе оценки «популяционной стоимости» и динамики приспособленности трансгенных бактерий при интродукции их в природные экосистемы.

1. Твердислов В.А. Биофизическая экология / В.А. Твердислов, А.Э. Сидорова, Л.В. Яковенко. – М.: УРСС, 2012, 544 с.

2. Брильков А.В., Печуркин Н.С., Логинов Ю.Ю. Экологическая биофизика. – Красноярск: Изд-во СибГУ им. М. Ф. Решетнева, 2024, 144 с.

## ВЛИЯНИЕ ИЗОТИОЦИАНАТОВ (ИТЦ) НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ГРИБА *FUSARIUM SOLANI*

### Influence of Isothiocyanates (ITC) on the Growth and Development of the Mushroom *Fusarium Solani*

Брилькова Е.В., Сырцов С.Н., Суханова А.А.

Сибирский государственный университет науки и технологий им. ак. М.Ф. Решетнёва, г. Красноярск, РФ,  
evmorbril@mail.ru, kaideil@list.ru, shumilova.ann@mail.ru

Изотиоцианаты (ИТЦ) благодаря своей высокой летучести и широкой биологической активности рассматриваются как биофумиганты для борьбы с почвенными грибковыми заболеваниями в сельском хозяйстве, в частности, возбудителем корневой гнили *Fusarium solani* [1]. Целью настоящей работы было исследование влияния ИТЦ на рост и развитие *Fusarium solani* in vitro. В работе использовали чистые вещества аллизотиоцианат (АИТЦ), 2-фенилэтиллизотиоцианат (ФИТЦ) и бензиллизотиоцианат (БИТЦ) (0,6, 10, 25, 40, 55, 70, 85, 100, 500 и 1000 мг/л среды) для определения действующей (летальной) концентрации ИТЦ на рост *F. solani*. Фунгицидную активность ИТЦ определяли в чашках Петри на плотной среде Чапека на 7 сутки роста по диаметру колонии гриба. Выделение РНК из мицелия гриба проводили с набором ExtractRNA (Евроген, Россия), качество проверяли на микрофлюидном анализаторе BioAnalyzer 2100 с набором RNA 6000 pico chip (Agilent Technologies). Удаление остаточной ДНК проверяли на микрофлюидном анализаторе BioAnalyzer 2100 набором

RNA 6000 pico chip (Agilent Technologies). Тримминг и полученные чтения картировали на референсный геном *Fusarium solani* strain SB1 (NDSU\_Fsol\_1.0); GCF\_023522795.1 с использованием программы Hisat2 v 2.2.1.

Показано, что в отношении *F. solani* действие ФИТЦ значительно слабее по сравнению с АИТЦ, что, скорее всего, связано с восприимчивостью гриба к АИТЦ, который включает ингибирование метастазирования клеток посредством подавления пути MAPK, повреждение ДНК посредством генерации  $O_2^-$ , индукцию экспрессии глутатион-S-трансферазы (GST) у *Caenorhabditis elegans*, воздействие на структуры белков путем разрушения дисульфидных связей у бактерий и уничтожение клеток грибов путем вызывания реакции окислительного стресса [1,2].

Для исследования влияния ИТЦ на геном *F. solani* было проведено выделение ДНК из мицелия гриба по методу, основанному на использовании цетилтриметиламмоний бромида (ЦТАБ) в качестве детергента с некоторыми модификациями. В ходе анализа дифференциальной экспрессии генов у гриба *F. solani* был выделен 41 ген, у которых экспрессия менялась более чем в 100 раз по сравнению с контрольной группой. Эти гены связаны с ключевыми процессами метаболизма, клеточными процессами и сигналингом. Функциональная характеристика ДЭГ с экспрессией более 100 раз была выполнена с помощью базы данных кластеров ортологичных групп генов (COG) с использованием инструмента reCOGnizer v 1.10.1 и присвоена только 11 генам с повышенной экспрессией и 5 генам с пониженной экспрессией. Показано, что при действии ФИТЦ на *F. solani* у гриба усиливается синтез пермеаз из-за значительного повышения экспрессии генов отвечающих за метаболизм углеводов, аминокислот, неорганических вещества. При этом снижается синтез цитохрома P450, что связано со снижением устойчивости к токсическим факторам среды. Наибольшее снижение отмечалось для синтеза ацил-КоА-дегидрогеназы, связанной с белком ответа на алкилирование AidB, что означает снижение чувствительности к воздействию алкилирующих агентов.

Таким образом, установлено, что АИТЦ оказался более эффективным против *Fusarium solani* и проявляет фунгицидные свойства в изученных концентрациях. БИТЦ и ФИТЦ оказывали только фунгистатический эффект на рост патогенного гриба. Проведенные исследования показали, что АИТЦ как чистое вещество, а ФИТЦ и БИТЦ при депонировании в гранулы могут быть рекомендованы в качестве средства контроля фузариоза картофеля как компонент комплексной программы борьбы с болезнями и вредителями.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда, проект № 23-16-00184.*

1. Yingbin, Li. Allyl isothiocyanate (AITC) triggered toxicity and *FsYvc1* (a STRPC family member) responded sense in *Fusarium solani* // *Frontiers in Microbiology*, 2020, vol. 11, № 5, p. 870.

2. Zhang, D. Systematic assessment of the antifungal mechanism of soil fumigant methyl isothiocyanate against *Fusarium oxysporum* // *Env. Pollution*, 2024, vol. 341, p. 122791.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОМОДЕЛЬНОСТИ В СИСТЕМЕ ДВУХ БИОЛОГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ, СВЯЗАННЫХ ПОСРЕДСТВОМ ХИМИЧЕСКОГО СИНАПСА Investigation of Self-Similarity in the System of Two Biological Neurons Connected by a Chemical Synapse

Галанин В.В.

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, РФ, v.v.galanin@samsmu.ru

В работе исследуется динамика пары биологических нейронов Ходжкина-Хаксли, взаимодействующих между собой посредством химического синапса. Данная модель представляет интерес в связи с изучением явлений синхронизации в ансамблях колебательных нейронов. В центральной нервной системе можно найти множество примеров синхронной активности нейронов. К примеру, это могут быть генераторы центральных паттернов [1], таламо-кортикальные цепи [2]. Поскольку ансамбли нейронов синхронизируются при обработке биологической информации или для обеспечения регулярной ритмической активности [3].

Рассматриваемая модель включает систему дифференциальных уравнений Ходжкина-Хаксли для пары биологических нейронов, связанных однонаправленной возбуждающей химической связью [4]. Причем, данная система уравнений записывается в инвариантном относительно преобразования подобия виде:

$$C_1 \frac{dV_1}{dt} = -\sum_i \pi_{1i} I_{1i} + \pi_{st1} I_{st1},$$

$$C_2 \frac{dV_2}{dt} = -\sum_i \pi_{2i} I_{2i} + \pi_{st2} I_{st2} - \pi_{syn} \frac{g_{syn}(V_2 - V_{syn})}{1 + \exp[-(V_1 - \theta_{syn})/k_{syn}]},$$

где индекс «1» обозначает пресинаптический нейрон, индекс «2» – постсинаптический нейрон;  $V_{1,2}$  – мембранные потенциалы;  $C_{1,2}$  – емкости мембраны;  $I_{1,2i}$  – силы токов через ионные каналы;  $I_{st1,2}$  – силы токов стимуляции;  $g_{syn}, V_{syn}, \theta_{syn}, k_{syn}$  – параметры синаптического тока;  $\pi_{1,2i}, \pi_{st1,2}, \pi_{syn}$  – параметры, которые выражают условия подобия исследуемой нейронной модели (критерии подобия).

Путем сопоставления численных значений параметров подобия динамический режим химически связанной нейронной пары можно разбить на ряд характерных областей, в пределах которых активность нейронов выглядит одинаковым образом. Результаты компьютерного моделирования показали, что при  $\pi_{syn} < 17,5$  на мембране постсинаптического нейрона возникают только электротонические потенциалы (рис 1а); при  $17,5 < \pi_{syn} < 26,3$



постсинаптический нейрон демонстрирует колебания с частотой вдвое меньше, чем у возбуждающего его пресинаптического нейрона (рис. 1б); при  $26,3 < \pi_{syn}$  колебания пост- и пресинаптического нейронов полностью синхронизированы (рис. 1в).

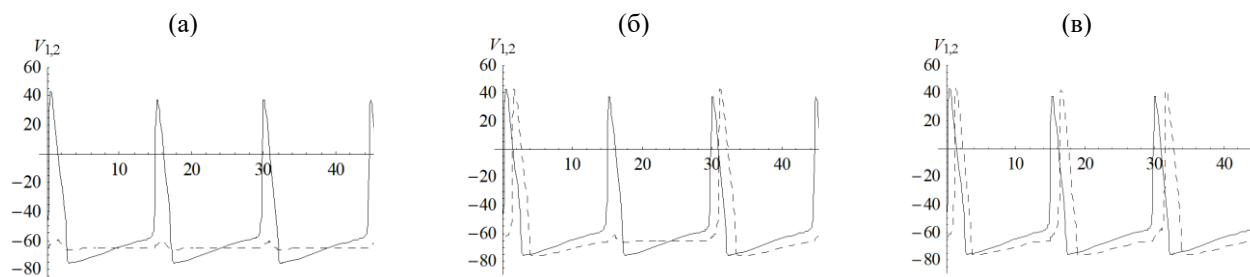


Рисунок 1

Таким образом, режимы активности пары химически связанных нейронов можно охарактеризовать областями автомодельности параметров подобию синаптической связи модели Ходжкина-Хаксли. Знание параметров подобию позволяет не рассматривать все значения  $\pi_{syn}$ , а выбрать одно произвольное из соответствующей данному динамическому режиму области автомодельности.

1. Mulloney B., Smarandache C., Fifty years of CPG: two neuroethological papers that shaped the course of neuroscience // Front. Behav. Neurosci., 2010, vol. 4 (45), pp. 1-8.
2. Lindquist B.E., Timbie C., Voskobiynyk Y., Paz J.T., Thalamocortical circuits in generalized epilepsy: Pathophysiologic mechanisms and therapeutic targets // Neurobiol. Dis., 2023, vol. 181, 106094.
3. Gray C.M., Synchronous oscillations in neuronal systems: mechanisms and functions // J. Comput. Neurosci., 1994, vol. 1 (1-2), pp. 11-38.
4. Симонов А.Ю., Гордлеева С.Ю., Писарчик А.Н., Казанцев В.Б., Синхронизация с произвольным сдвигом фаз в паре синаптически связанных нейронных генераторов // Письма в ЖЭТФ, 2013, т. 98 (10), с. 707-712.

## **ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ ЭПИКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ И ВВЕДЕНИЯ ДОНОРА NO** **Changes in the Structure of the Lipid Bilayer of Mitochondrial Membranes of Pea Seedling Epicotyls under Drought Conditions and the Introduction of a NO Donor**

Герасимов Н.Ю.<sup>1</sup>, Неврова О.В.<sup>1</sup>, Жигачева И.В.<sup>1</sup>, Генерозова И.П.<sup>2</sup>, Голощапов А.Н.

<sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля, г. Москва, РФ, [n.yu.gerasimov@gmail.com](mailto:n.yu.gerasimov@gmail.com)

<sup>2</sup> Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва, РФ

Засушливый стресс (засуха) – один из факторов для растений, ведущих к выраженным изменениям структуры и свойств липидного бислоя мембран. В ответ на засуху происходит увеличение образования активных форм кислорода, инициирующих пероксидное окисление липидов (ПОЛ). Что приводит к разрушению билипидного слоя мембран, его разупорядочиванию, потере избирательной проницаемости и снижению жизнеспособности клеток. Кроме того, повышается количество насыщенных жирных кислот в мембранах. В результате чего фазовое состояние липидов изменяется: мембраны становятся менее текучими, что ограничивает их нормальное функционирование. Для поддержания жизнеспособности клеток, сохранения целостности митохондриальных мембран при засухе растения используют различные защитные механизмы по снижению окислительного стресса, ключевую роль в которых играет NO. Оксид азота (II) является сигнальной молекулой в пути активации антиоксидантных ферментов и поддержании устойчивости растений при стрессе.

В работе было изучено изменение структурных характеристик мембран митохондрий эпикотилей проростков гороха *Pisum sativum* L. при воздействии донора NO при засушливом стрессе. В качестве донора оксида азота (II) был использован кристаллический водорастворимый натрий-μ2-дитиосульфатотетранитрозилдиферрат тетрагидрат ( $[\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ , ТНКЖ-тио). Микровязкость липидного бислоя мембран определяли методом ЭПР спиновых зондов. В качестве зондов использовали стабильные нитроксильные радикалы 2,2,6,6-тетраметил-4-каприлоилоксипиперидин-1-оксил (липидный зонд) и 5,6-бензо-2,2,6,6-тетраметил-1,2,3,4-тетрагидро-γ-карболин-3-оксил (белковый зонд).

Для оценки структуры мембран были получены температурные зависимости времен вращательной корреляции липидного и белкового зондов для контрольной группы, при дефиците воды и в присутствии ТНКЖ-тио в условиях засухи. Показано, что дефицит воды приводил к увеличению микровязкости мембран митохондрий по сравнению с контролем, что, возможно, связано с окислительным стрессом, вследствие чего происходило, вероятно, уменьшение количества ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран. В

предварительно обработанных ТНКЖ-тио семенах накапливался NO. Донор оксида азота в условиях засухи, вероятно, увеличивал активность антиоксидантных ферментов, поэтому мембраны митохондрий эпикотилей проростков гороха подвергались меньшему окислительному стрессу. В результате под действием засухи увеличение микровязкости митохондриальных мембран эпикотилей проростков гороха, предварительно обработанных ТНКЖ-тио, было менее выраженным по сравнению с необработанными донором NO семенами. Также, обработка семян донором NO в условиях засухи приводила к увеличению кристалличности мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха. Увеличение кристалличности мембран может указывать на увеличение стойкости растений к дефициту воды.

### ЗАВИСИМОСТЬ МИНИМАЛЬНОГО ДИАМЕТРА ТРАНСПОРТА МАГНИТОМАРКИРОВАННЫХ КЛЕТОК НАД ПЛЕНКОЙ С ПОЛОСОВОЙ ДОМЕННОЙ СТРУКТУРОЙ ОТ ВЕЛИЧИНЫ АМПЛИТУДЫ НОРМАЛЬНОЙ КОМПОНЕНТЫ МАГНИТНОЙ ИНДУКЦИИ ВНЕШНЕГО ПОЛЯ

Dependence of the Minimum Diameter of Magnetic Marked Cells Transport Above a Film with a Strip Domain Structure on the Amplitude of the Normal Component of the Magnetic Induction of the External Field

Губарев А.А., Павлов В.Н., Легенький Ю.А., Беспалова С.В.

Донецкий государственный университет, г. Донецк, РФ, Gubarev\_A\_A\_@mail.ru

Под действием внешнего магнитного поля магнитомаркированные клетки при некоторых значениях параметров могут перемещаться над пленкой на расстояния, значительно превышающие период доменной структуры,  $\lambda$  (транспорт клеток). При уменьшении диаметра клетки до некоторого критического,  $D_{\min}$ , характер движения клеток меняется на колебания с амплитудой меньше  $\lambda$ . Для использования этого явления с целью разделения клеток по диаметру необходимо знание зависимости  $D_{\min}$  от внешнего магнитного поля. Целью этого исследования был численный расчёт в рамках подхода [1], зависимости  $D_{\min}$  от величины амплитуды нормальной компоненты внешнего поля,  $B_z$ . Внешнее поле имело вид знакопеременного меандра  $\mathbf{B} = (B_x \operatorname{sgn}(\sin vt), 0, B_z \operatorname{sgn}(\sin vt))$ , значение  $B_x = 3$  мТл. Для возможности выполнения расчёта в широком диапазоне изменения  $B_z$  были экспериментально измерены ширина домена,  $2L_x$ , и  $\lambda$  для пленки  $(\text{YSmLuCa})_3(\text{FeGe})_5\text{O}_{12}$  толщиной 6.8 мкм и намагниченностью  $M_s = 20531$  А/м. Как показано на рисунке 1а, экспериментальные данные удовлетворительно приближались зависимостями

$$f_{2L_x}(H_z) = \begin{cases} 0.3896H_z + 4.85, & H_z < 2; \\ 2.973 \cdot 10^{-5} H_z^6 + 0.3896H_z + 4.85, & H_z > 2; \end{cases} \quad \lambda = f_{2L_x}(H_z) + f_{2L_x}(-H_z).$$

Поскольку магнитная маркировка заключена в тонкой сферической оболочке, расчет  $D_{\min}$  выполнялся для двух моделей силы:

$$\mathbf{F}^m = \frac{1}{2} \chi \mu_0 V \nabla H^2 \quad (\text{дипольное приближение}), \quad \mathbf{F}^m = \frac{1}{2} \chi \mu_0 s \iint_{\Sigma} \nabla H^2 d\sigma \quad (\text{интегрирование по сфере}),$$

где  $V$  – объём клетки,  $s$  – толщина оболочки. Значение градиента при вычислении в дипольном приближении находится в центре шара; интегрирование выполняется по сфере радиуса  $R_i = 0.95R$ ,  $R$  – радиус клетки.

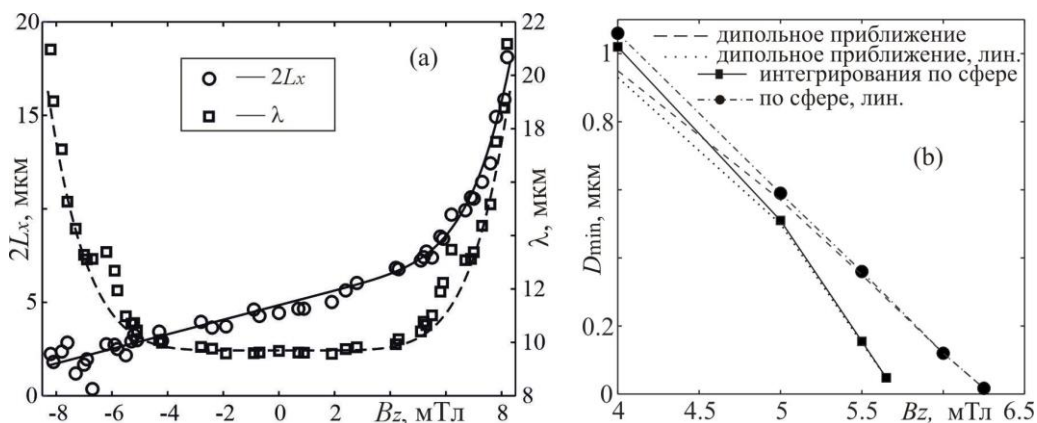


Рисунок 1. (а) Зависимость ширины домена с намагниченностью, направленной вверх ( $2L_x$ ), и периода доменной структуры  $\lambda$  от нормальной компоненты внешнего поля; (б) зависимость минимального диаметра от нормальной компоненты индукции внешнего поля. Высота нижнего края клетки над пленкой  $\Delta z = 0,001$  мкм

Для значений  $B_z$  2 и 3 мТл значения  $D_{\min}$  для нелинейной зависимости  $2L_x$  и линейной ( $f_{2L_x}(H_z) = 0,3896 H_z + 4,85$ ) совпадают в пределах погрешности вычислений и равны для 2 мТл 4,23/1,42 мкм по сфере/дипольное приближение. Для больших значений внешнего поля результаты приведены на рисунке 1б.

*Работа выполнена в рамках государственного задания (регистрационный номер 124012400345-8).*

1. Губарев А.А., Легенький Ю.А., Беспалова С.В. Численное моделирование перемещения парамагнитных частиц над полосовой структурой магнитных доменов // Вестник Донецкого национального университета, Серия А: Естественные науки, 2023, № 4, с. 39-49.

## МОДЕЛЬ ПАМЯТИ НА ОСНОВЕ СЕТИ ИМПУЛЬСНО СВЯЗАННЫХ ХИМИЧЕСКИХ ОСЦИЛЛЯТОРОВ

Memory Experimental Model Based on a Network of Pulse-Coupled Chemical Oscillators

Ефимов А.А., Проскуркин И.С., Лаврова А.И.

Центр прикладной нелинейной динамики БФУ им. И. Канта, г. Калининград, РФ, *efimov\_alex99@mail.ru*

Современные исследования в области искусственных нейронных сетей активно развиваются на базе связанных осцилляторов, в частности химических, реализованных на автокаталитической реакции Белоусова–Жаботинского (БЖ) [1]. На основе таких систем уже создавались различные функциональные блоки: генераторы ритмов, декодеры, приёмники сигналов и модули принятия решений [2-4]. В данной работе представлен блок памяти, построенный на четырёх импульсно связанных БЖ-осцилляторах, взаимодействующих через “химические синапсы”, управляемые возбудимыми ячейками. Осцилляторы реализованы в виде микрореакторов из ПВХ трубок (диаметр 0,5 мм). Светочувствительный катализатор позволяет модулировать связь между осцилляторами с помощью световых импульсов. Управление и регистрация динамики осуществляются в среде LabVIEW. В экспериментах были использованы следующие концентрации реагентов:  $[MA] = 0,4$  М,  $[H_2SO_4] = 0,08$  М,  $[NaBrO_3] = 0,3$  М, [ферроин] = 3 мМ,  $[Ru(bpy)_3^{2+}] = 1,2$  мМ.

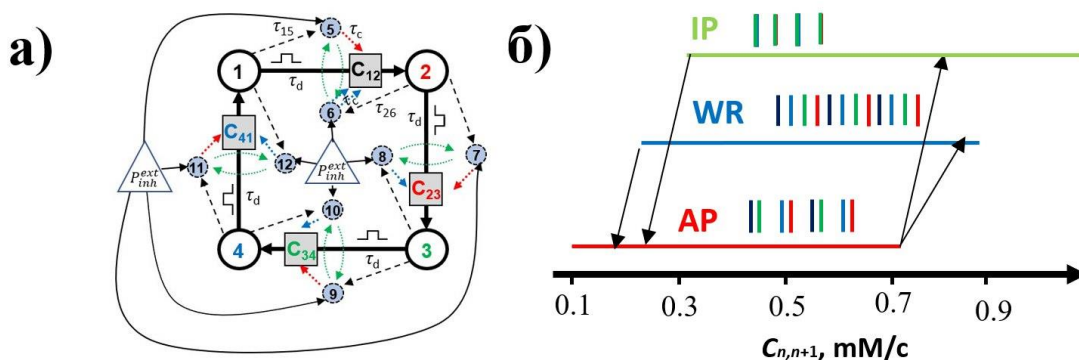


Рисунок 1. а) Сеть из четырех связанных БЖ-осцилляторов (№1-4) с “химическими синапсами”  $C_{n,n+1}$ . №5-12 – вспомогательные электронные ячейки,  $P_{inh}^{ext}$  – источник внешнего ингибиторного сигнала для управления вспомогательными возбудимыми ячейками. Стрелками обозначены импульсные связи. б) Диаграмма режимов сети в зависимости от силы связи «химических синапсов»  $C_{n,n+1}$ .

Существующие в сети ингибиторно связанных осцилляторов №1-4 динамические режимы являются образами для нашего блока памяти. Для одинаковых параметров связи при временной задержке  $\tau_d = 10$  с в сети обнаружены области мультиритмичности, при которых в сети может быть установлен один из трех режимов: WR (обратный шаг), AP (антифаза) или IP (синфаза) (рис. 1б). Из диаграммы режимов видно, что такие области определяют зоны гистерезиса для возможных переключений между режимами. Внедрение в сеть химических синапсов  $C_{n,n+1}$  и вспомогательных возбудимых ячеек №5-12, управляющих силой связи, позволяет создать систему автоматической регуляции силы связи, поддерживающей ее на некотором среднем уровне  $C_{n,n+1} = 0,19$  мМ/с, соответствующем области мультиритмичности. Воздействие внешних сигналов  $P_{inh}^{ext}$ , подавляющих активность управляющих ячеек, может изменить силу связи “химических синапсов”  $C_{n,n+1}$  и перевести систему в новый режим, что можно рассматривать как форму запоминания. Функционирование такой сети было подтверждено в эксперименте.

Таким образом, был успешно создан и протестирован блок памяти на основе сети из четырех БЖ осцилляторов, связанных при помощи “химических синапсов” с автоматической регуляцией силы связи. В ответ на внешние сигналы в сети были реализованы следующие переключения: из AP в WR и из WR в AP, а также из IP в AP и из AP в IP.

1. Mersing D., Tyler S.A., Ponboonjaroenchai B. et al. Novel modes of synchronization in star networks of coupled chemical oscillators // *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, 2021, vol. 31, no. 9.
2. Litschel T., Norton M.M., Tserunyan V., Fraden S. Engineering reaction–diffusion networks with properties of neural tissue // *Lab on a Chip*, 2018, vol. 18, no. 5, pp. 714-722.
3. Hunter I., Norton M.M., Chen B. et al. Pattern formation in a four-ring reaction-diffusion network with heterogeneity // *Physical Review E*, 2022, vol. 105, no. 2, p. 024310.
4. Proskurkin I.S., Smelov P.S., Vanag V.K. Experimental verification of an opto-chemical “neurocomputer” // *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2020, vol. 22, no. 34, pp. 19 359-19 367.

## МИТОХОНДРИАЛЬНО-АРГИНИНОВАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ Mitochondrial-Arginine Theory of Aging

Касумов Э.А., Касумов Р.Э., Касумова И.В.

НПЦ «КОРВЕТ», г. Домодедово, Московская обл., РФ, [kasumov\\_eldar@mail.ru](mailto:kasumov_eldar@mail.ru)

Митохондриальная теория старения Хармана [1], основывается на том, что старение происходит из-за кумулятивного воздействия свободных радикалов на митохондриальную ДНК и ее функцию. Согласно этой теории, митохондрии являются основным источником разрушительных свободных радикалов, которые атакуют различные компоненты клетки, и утечка свободных радикалов из дыхательных цепей митохондрий происходит практически неконтролируемо и постоянно. Это означает, что животные, имеющие высокий уровень метаболизма, быстро образуют свободные радикалы и живут недолго, а животные с низким уровнем метаболизма, наоборот. Несмотря на то, что эта точка зрения не оправдалась, митохондриальная теория старения учитывает исключительную важность роли митохондрий в жизнедеятельности живых организмов и старении, следовательно, представляет огромный интерес. По нашему мнению, данная теория не в состоянии полностью объяснить механизм старения из-за недостаточного знания механизмов функционирования митохондрий. Известно, что активная форма кислорода (АФК) образуется также в молодых организмах и играет важную физиологическую роль в клеточных процессах и процессах развития организма. Например, низкий уровень АФК участвует в селективном удалении митохондрий в митофагии, тогда как высокий уровень участвует в неселективной макроаутофагии [2]. Считается, что причиной образования повышенного уровня АФК является задержка электрона больше оптимально необходимого времени в электрон транспортной цепи (ЭТЦ) на участках до цитохрома с внутренней митохондриальной мембраны, что в результате образовавшаяся АФК вызывает цепные реакции перекисного окисления липидов, повреждение митохондриальной ДНК, дисфункции митохондрий, апоптоз и гибель клеток. Однако, до сих пор остается непонятной причина задержки электрона в ЭТЦ. По предложенной нами механо-хемиосмотической модели сопряженными являются процессы: перенос электронов по ЭТЦ, циклическое низкоамплитудное набухание-сокращение митохондрий и синтез АТФ [3]. Согласно этой модели, перенос электрона в ЭТЦ через димеры цитохром bc1 комплекса регулируется сокращением межмембранного пространства митохондрий. Гиперосмотические условия, в т.ч. вызываемые дефицитом воды в цитозоле старых организмов, увеличивают время циклического набухания-сокращения митохондрий, что является причиной задержки переноса электрона в ЭТЦ, уменьшения скорости синтеза АТФ и образования АФК. В свою очередь, повышенное количество АФК вызывает сильную деполяризацию (слабая деполяризация-реполяризация является составной частью функционирования митохондрий), открытие митохондриальной поры переходной проницаемости и апоптоз. Согласно механо-хемиосмотическому механизму остатки лизина и аргинина участвуют в трансформации энергии, как при синтезе АТФ в митохондриях, так и при гидролизе АТФ в мышцах. В связи с тем, что происходит дефицит аргинина в человеческом организме после 28 лет, то дефицит аргинина и лизина приводит не только к дефициту энергии в организме, а также нарушаются другие важные функции, связанные с этими аминокислотами. Лизин и аргинин оказывают влияние на длину теломеров, на гормональную регуляцию, эпигенетическую регуляцию гистонов и др. белки. Высокие концентрации глюкозы вызывают набухание межмембранного пространства митохондрий [4], снижающее эффект гипоксии в раковых клетках [5] и являются причиной гликирования остатков лизинов и аргининов белков при старении [6].

Таким образом, мы предлагаем митохондриально-аргининовую теорию старения [7] в основе которой лежит, снижение синтеза аргинина и дисфункция митохондрий с возрастом. Дисфункция митохондрий вызывается каскадными процессами, происходящими генетически обусловленным снижением количества воды в организме, связанным в т.ч. с повышением концентрации глюкозы с возрастом; дефицитом аргинина и лизина; уменьшением физической активности, приводящим к повышению уровня сахаров и снижению уровня. В свою очередь, из-за дисфункции митохондрий происходит гликирование белков вследствие повышения концентрации сахаров и АФК. Итак, для достижения здорового долголетия необходимы: регулярная физическая активность, прием достаточного количества воды, сбалансированное питание с учетом устранения дефицита аргинина и лизина, сон и отсутствие дистресса [8,9].

1. Harman D. J. // Gerontol., 1956, vol. 11, pp. 298-300.
2. Sinenko S.A., Starkova T.Y., Kuzmin A.A., Tomilin A.N. // Front. Cell Dev. Biol., 2021, vol. 9, p. 714370, doi: 10.3389/fcell.2021.714370.
3. Kasumov E.A., Kasumov R.E., Kasumova I.V. // Photosynth. Res., 2015, vol. 123, pp. 1-22, doi: 10.1007/s11120-014-0043-3.
4. Alca'ntar-Ferna'ndez J., Gonza'lez-Maciel A., Reynoso-Robles R. et al. // PLoS ONE, 2019, vol. 14 (12), e0226652, doi: 10.1371/journal.pone.0226652.
5. Ögünç Keçeci Y., İncesu Z. // Mol Biol Rep, 2022, doi: 10.1007/s11033-022-07400-6.
6. Haus J.M., Carrithers J.A., Trappe S.W., Trappe T.A. // J. Appl. Physiol., 2007, vol. 103, pp. 2068-2076.
7. Kasumov E., Kasumov R., Kasumova I. Mitochondrial-arginine Theory of Ageing // Arch Biochem. 2024, vol. 7 (1), pp. 010-013, doi: 10.17352/ab.000010.
8. Kasumov E.A., Kasumov R.E., Kasumova I.V. // Organic Chem. Curr. Res., vol. 4, p. 136, doi: 10.4172/2161-0401.1000136.
9. Kasumov E.A., Kasumov R.E., Kasumova I.V. // J. Nov. Physiother. Phys. Rehabil., 2020, vol. 7 (1), pp. 033-035, doi: 10.17352/2455-5487.000075.

## БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ БИОТЕСТЫ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

### *Bioluminescent Enzymatic Bioassay for Environmental Monitoring*

Кратасюк В.А.<sup>1,2</sup>, Есимбекова Е.Н.<sup>1</sup>, Оюн А.М.<sup>1</sup>, Колосова Е.М.<sup>2</sup>, Чуяшенко Д.Е.<sup>1</sup>, Мучкина Е.Я.,  
Сутормин О.С.<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, *valkrat@mail.ru*

<sup>2</sup> Сургутский государственный университет, г. Сургут, РФ

Самым быстрым среди классических биотестов с использованием живых объектов (парамеций, водорослей, дафний и т.п.), считается биотест на светящихся бактериях, который осуществляется в течение 30 минут. Однако, как и в случае других организмов, биотесты на светящихся бактериях имеют те же недостатки, что и классические биотесты с использованием живых объектов. Необходимость поддержания стабильной бактериальной культуры во время измерений и при хранении приводят к низкой точности измерения. При этом реакция бактерий на токсичные вещества неоднозначна и выражается как в уменьшении, так и в увеличении интенсивности свечения, что часто затрудняет интерпретацию результатов.

Для решения этих проблем разработаны ферментативные биотесты для экологического мониторинга, которые позволяют обнаружить неизвестные токсичные соединения в окружающей среде, и, также как классические биотесты, показывают влияние вредных веществ на функции живых организмов. Анализ состоит в обнаружении токсических свойств тестируемых веществ и смесей по их влиянию на интенсивность свечения биферментной системы: NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза + люцифераза (Red + Luc) [1-3]. Тест методически прост: в измерительной кювете смешивают ферменты и их субстраты и регистрируют на биолюминометре контрольную интенсивность свечения. Далее процедура повторяется в присутствии анализируемой пробы. Токсичность смеси определяют по изменению величины интенсивности биолюминесценции в присутствии пробы по сравнению с контролем. «Индекс токсичности» (ИТ) определяют по формуле:  $ИТ = ((I_k - I_o)/I_k) \cdot 100 \%$  где  $I_k$  и  $I_o$  – максимальная интенсивность свечения в контрольной и анализируемой пробе.

Биотесты на основе биферментной системы Red + Luc были успешно использованы для анализа воды реки Енисей и её притоков, питьевой воды различных районов Красноярск и Алтайского края, соленого озера Шира (республика Хакасия), а также озера Байкал [4]. Получены данные, убедительно демонстрирующие возможности применения биолюминесцентных ферментных тестов для анализа токсичности не только воды, но и воздуха, снега [5] и почвы [6-9]. Определены составы такого теста для исследования загрязнения городских и сельскохозяйственных почв, на основе специфического действия токсикантов на ферменты.

Для разработки новой методологии комплексного ферментативного биотеста, направленного на оценку токсикологических параметров при загрязнении почв нефтепродуктами, ключевым методологическим подходом является подбор оптимальных экстрагирующих веществ. Проведен сравнительный анализ органических растворителей (ДМСО, ацетон и др.) и показаны преимущества использования ДМСО для исследования воздействия нефтяного загрязнения на почвенную среду.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-14-20030.*

1. Сутормин О.С., Колосова Е.М., Немцева Е.В. и др. Ферментативное биотестирование почв: сравнение чувствительности к токсикантам моно-, би- и триферментной систем // Цитология, 2018, № 10, с. 826-829.
2. Есимбекова Е.Н., Торгашина И.Г., Калябина В.П., Кратасюк В.А. Ферментативное биотестирование: научные основы и применение // Сибирский экологический журнал, 2021, т. 28, № 3, с. 365-382.

3. Esimbekova E.N., Kalyabina V.P., Kopylova K.V. et al. Design of bioluminescent biosensors for assessing contamination of complex matrices // *Talanta*, 2021, vol. 233, no.122509.
4. Vetrova E., Kratasyuk V., Kudryasheva N. Bioluminescence characteristics of lake Shira water // *Aquatic Ecology*, 2002, vol. 36, no. 2, pp. 309-315.
5. Rimashevskaya A.A., Muchkina E.Y., Sutormin O.S. et al. Bioluminescence Inhibition Bioassay for Estimation of Snow Cover in Urbanised Areas within Boreal Forests of Krasnoyarsk City // *Forests*, 2024, vol. 15, p. 1325.
6. Kolosova E.M., Sutormin O.S., Shpedt A.A. et al. Bioluminescent-Inhibition-Based Biosensor for Full-Profile Soil Contamination Assessment // *Biosensors*, 2022, vol. 12, p. 353.
7. Kolosova E.M., Sutormin O.S., Stepanova L.V. et al. Bioluminescent enzyme inhibition-based assay for the prediction of toxicity of pollutants in urban soils // *Environmental Technology and Innovation*, 2021, vol. 24, p. 101842.
8. Kratasyuk V.A., Kolosova E.M., Sutormin O.S. et al. Software for matching standard activity enzyme biosensors for soil pollution analysis // *Sensors*, 2021, vol. 21 (3), p. 1017.
9. Sutormin O.S., Goncharov A.S., Kratasyuk V.A. et al. Effects of Oil Contamination on Range of Soil Types in Middle Taiga of Western Siberia // *Sustainability*, 2024, vol. 16, p. 1204.

## РАСЧЁТ КОНЦЕНТРАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПО ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ В КУЛЬТУРЕ *PORPHYRIDIVM PURPUREUM*

### Calculation of the Concentration of Photosynthetic Pigments by Optical Density in the Culture of *Porphyridium Purpureum*

Клочкова В.С.<sup>1</sup>, Боровков А.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [viki-iki@mail.ru](mailto:viki-iki@mail.ru)

<sup>2</sup> ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ, [biotex@ibss-ras.ru](mailto:biotex@ibss-ras.ru)

Традиционные методы определения концентрации пигментов культур микроводорослей обладают рядом недостатков, включая трудоёмкость, необходимость дорогостоящего оборудования и реагентов для экстракции. Из-за длительной пробоподготовки такие методы не подходят для оперативного мониторинга и оптимизации условий выращивания микроводорослей в промышленных масштабах. В связи с этим актуальна разработка экспресс-методов контроля содержания пигментов, в частности, оптических методов, основанных на измерении оптической плотности или спектров поглощения. Основной проблемой применения этих методов является наличие явления светорассеяния, которое вносит вклад в измеряемые величины. Однако, существуют способы минимизации вклада светорассеяния, позволяющие использовать оптические методы для оперативного мониторинга. Целью данной работы являлось установить количественные закономерности между концентрацией фотосинтетических пигментов и оптической плотностью культуры *Porphyridium purpureum*.

В качестве объекта исследования использовали культуру красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew et Ross. Определяли величину оптической плотности в 0,5 см кювете на фотометре UNICO-2100, рассчитывали разницу оптических плотностей  $\Delta D_{\lambda}$ :  $\Delta D_{680} = D_{680} - D_{750}$ ;  $\Delta D_{545} = D_{545} - D_{750}$ ;  $\Delta D_{480} = D_{480} - D_{750}$ . На двухлучевом спектрофотометре Shimadzu UV-2600i с интегрирующей сферой получали истинный спектр поглощения, по которому определяли концентрацию хлорофилла *a*, В-фикоэритрина и суммарных каротиноидов методом кривых Гаусса [1].

Экспериментально показано, что концентрации пигментов, рассчитанные с помощью разделения истинных спектров поглощения на кривые Гаусса, линейно коррелирует с  $\Delta D_{\lambda}$ , измеряемой на фотометре. Для хлорофилла *a*, В-фикоэритрина и суммарных каротиноидов получены следующие выражения:

$$\begin{aligned}C_{\text{хл } a} &= 26 \cdot (D_{680} - D_{750}) \\C_{\text{В-ФЭ}} &= 215 \cdot (D_{545} - D_{750}) - 6,58 \\C_{\text{сум.кар.}} &= 5,32 \cdot (D_{480} - D_{750}) - 0,18\end{aligned}$$

В представленных выражениях наблюдается различие в зависимости концентрации исследуемых пигментов от оптической плотности. В то время как для хлорофилла *a* линейная зависимость концентрации от  $\Delta D_{680}$  выходит из нуля, для В-фикоэритрина и суммарных каротиноидов концентрация становится нулевой при определённом значении  $\Delta D_{\lambda}$ . Данное различие связано с меньшим вкладом светорассеяния в красной области спектра, по сравнению с синей [2].



Благодаря полученным выражениям можно быстро оценить содержание хлорофилла *a*, В-фикоэритрина и суммарных каротиноидов в биомассе культуры микроводорослей, измеряя только оптическую плотность. Для более точных расчётов необходимо анализировать полный спектр поглощения, что требует дорогостоящего спектрофотометра и специальных математических навыков, что целесообразно в научных исследованиях.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-26-20131 «Разработка научного обоснования промышленного производства функциональных продуктов питания, включающих экстракты микроводоросли порфиридиум».*

1 Чернышёв Д.Н., Ключкова В.С., Лелеков А.С. Модель декомпозиции нативного спектра поглощения культуры *Porphyridium purpureum* // Вестник Самарского университета. Естественнонаучная серия, 2024, т. 30, № 1, с. 122-131, doi: 10.18287/2541-7525-2024-30-1-122-131.

2 Merzlyak M.N., Naqvi K.R. On recording the true absorption and scattering spectrum of a turbid sample: application to cell suspensions of the cyanobacterium *anabaena variabilis* // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2000, vol. 58, pp. 123-129, doi: 10.1016/s1011-1344(00)00114-7.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ МАРКЕРОВ ПРИ НАРУШЕНИИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОЛЛАГЕНОВОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО ФАНТОМА

Modeling of Marker Spreading in Blood-Brain Barrier Disturbance using a Collagen Hydrogel Phantom

Лаврова А.И.<sup>1</sup>, Ванина А.С.<sup>2</sup>, Сафонов Д.А.<sup>3</sup>, Постников Е.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии, г. Санкт-Петербург, РФ, aurebours@googlemail.com

<sup>2</sup> НИЦ физики конденсированного состояния, Курский государственный университет, г. Курск, РФ

<sup>3</sup> Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) обеспечивает селективный обмен между кровью и тканью мозга, а его нарушение связано с рядом неврологических заболеваний и затрудняет доставку терапевтических агентов [1]. Согласно *in vivo* исследованиям, после повреждения ГЭБ транспорт веществ осуществляется в два этапа: начальный потокоподобный перенос и последующая диффузия [2]. Выяснение физических механизмов этого процесса критически важно для разработки эффективных методов лечения.

Для изучения возможной физической основы такого поведения мы создали биомиметическую физическую [3] модель, имитирующую распространение веществ после открытия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) с использованием фантома на основе коллагенового гидрогеля с микроканалом (0,4 мм в диаметре), заполненным раствором с маркером (ферроином). Процесс проникновения маркера из канала в гидрогель регистрировался с помощью микроскопа (Olympus SZX16) со скоростью 1 кадр в секунду, что дало подробную пространственно-временную картину профилей концентрации маркера. Она подтвердила наличие двухэтапного процесса, состоящего из начальной фазы быстрого распространения маркера, которое не может быть объяснено исключительно классической диффузией, за которой следует более медленный режим, аналогичный диффузии. Количественно данный вывод также подтвержден зависимостью кривой релаксации концентрации маркера в центре канала, для которой характерна зависимость, соответствующая переходу от потокоподобного переноса вещества из канала во внешнюю пористую среду к диффузионному.

Для моделирования наблюдаемой динамики мы использовали уравнение Каттанео [3], представляющее собой обобщение классического закона диффузии Фика за счёт введения параметра времени релаксации, который позволяет учитывать конечные скорости распространения вещества, а также описывать волновые явления переноса. Дополнительно уравнение было модифицировано посредством включения члена утечки (с коэффициентом  $k$ ), отражающего процессы потери или захвата маркера в пористой среде:

$$\tau \frac{\partial^2 C}{\partial t^2} + \frac{\partial C}{\partial t} = D \nabla^2 C - kC,$$

Численные расчёты были выполнены в двумерной системе с аксиально-симметричными начальными условиями. Параметры модели, соответствующие эксперименту, были найдены на основе регрессии кривой релаксации, подвергнутой специальному линеаризующему преобразованию, в рамках которого констатируется воспроизведение как ее нелинейного участка на ранних временных интервалах, так и асимптотического линейного, соответствующего режиму диффузии на больших временах. Аналитическое исследование модели показало, что введённый член утечки определяет медленное экспоненциальное затухание сигнала при длительных наблюдениях, тогда как параметр релаксации ( $\tau$ ) контролирует начальную стадию быстрого распространения «волнового фронта». Найденный коэффициент диффузии ( $4 \times 10^{-5}$  мм<sup>2</sup>/с) хорошо согласуется с ранее опубликованными данными, полученными в исследованиях при открытии гематоэнцефалического барьера *in vivo* с применением ультразвука и на основе МРТ, что подтверждает физиологическую релевантность используемой модели. Таким образом, данный подход, сфокусированный на процессах при нарушениях ГЭБ, имеет более широкое значение для понимания массопереноса в пористых биологических тканях и мягких

материалах, а также может быть расширен для исследования доставки лекарств, выведения метаболитических отходов и патологий, связанных с изменением проницаемости тканей.

1. Pandit R., Chen L., Gotz J. The blood-brain barrier: Physiology and strategies for drug delivery // *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2020, vol. 165-166, pp. 1-14.
2. Postnikov E.B., Namykin A.A., Semyachkina-Glushkovskaya O.V., Postnov D.E. Diffusion assessment through image processing: beyond the point-source paradigm // *Eur. Phys. J. Plus*, 2021, vol. 139, p. 480.
3. Vanina A.S., Lavrova A.I., Safonov D.A. et al. Mimicking Marker Spread After Disruption of the Blood–Brain Barrier with a Collagen-Based Hydrogel Phantom // *Biomimetics*, 2024, vol. 9, p. 667.

## АГРЕГАЦИОННАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИЯ – НОВЫЙ ВИД ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

### Aggregation Fluorescence is a New Type of Luminescence

Лобышев В.И.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, [lobyshev@yandex.ru](mailto:lobyshev@yandex.ru)

Холодное свечение или люминесценция может быть вызвана разными причинами, вызывающими возбуждение системы. По этому признаку различают био-, хемо-, механо-, электро-, соно-, трибо-, фото-, катодо-, радио- и термолюминесценцию. В биофизических исследованиях чаще всего используется наиболее изученный метод фотолюминесценции с коротким временем жизни возбуждённого состояния – метод флуоресценции. Среди аминокислот, составляющих белки, только три из них (тирозин, фенилаланин и триптофан) являются ароматическими, т.е. обладают сопряженной  $\pi$ -электронной системой, характеристичным спектром поглощения и флуоресценции. Наиболее информативен триптофан, поскольку его оптические характеристики обладают высокой чувствительностью к окружению, т.е. конформационным перестройкам структуры биополимера.

Было впервые обнаружено, что при уменьшении концентрации водного раствора глицилтриптофана интенсивность флуоресценции закономерно уменьшается до шумовых значений, но при концентрации дипептида в интервале  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  М флуоресценция вновь возгорается до интенсивности эквивалентной таковой в растворе с концентрации  $5 \cdot 10^{-6}$  М [1]. При этом дипептид глициласпарагин, не обладающий люминесценцией, также проявляет аналогичный спектр излучения в указанном диапазоне концентраций. Более того, флуоресценция была зарегистрирована в дистиллированной воде. Соответствующие спектры приведены на рисунке 1. Характерно, что при этом спектры поглощения не выявляют полос поглощения [1, 2]. Оценка размера области возбужденного состояния в случае дипептидов составляет 100–200 нм, что вполне укладывается в современные представления о самоорганизации мезоструктур нанометрового масштаба.

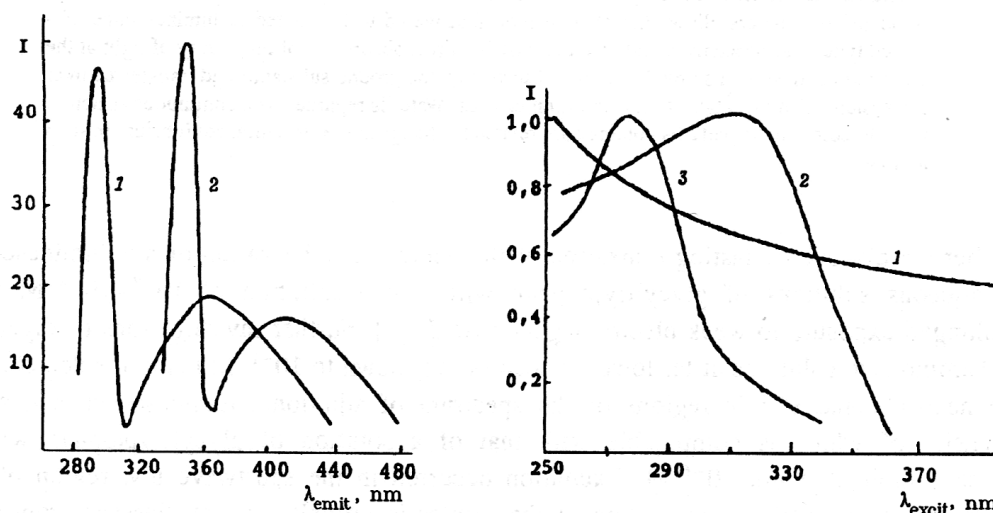


Рисунок 1. Нормированный спектр излучения дистиллированной воды при длине волны возбуждения: 1 – 270 нм, 2 – 310 нм. Острые пики представляют рамановское рассеяние. Справа – нормированные спектры возбуждения «коротковолновой» (3), «длинноволновой» (2) флюоресценции и оптического поглощения (1). Коэффициент экстинкции при 250 нм равен 0,15

В обзорном докладе будут представлены примеры аналогичных наблюдений в водных растворах различных, веществ не обладающих собственной люминесценцией [3, 4], воды, памятуя о том, что чистая вода в равновесии с воздухом содержит  $10^{-5}$ М бикарбонат-ионов, а также обсуждены возможные механизмы агрегационной или кластерной флуоресценции.



1. Лобышев В.И., Рыжиков Б.Д., Шихлинская Р.Э., Мазурова Т.Н. Собственная люминесценция воды и сильно разбавленных растворов дипептидов // Биофизика, 1994, т. 39, вып. 4, с. 565-570.
2. Lobyshev V.I., Shikhlin'skaya R.E., Ryzhykov B.D. Experimental evidence for intrinsic luminescence of water // Journ. of Molecular Liquids, 1999, vol. 82, p.73-81.
3. Haoke Zhang, Zheng Zhao, McGonigal P.R. et.al. Clusterization-triggered emission: Uncommon uminescence from common materials // Materials Today, 2019, doi: 10.1016/j.mattod.2019.08.010.
4. Yijia Wang, Jingyi Nie, Wen Fang et.al. Sugar-BasedAggregation- iduced Emission Luminogens: Design, Structures a nd Applications // Chemical Reviews, 2020, doi: 10.1021/acs.chemrev.9b00814.

## НОВЫЙ МЕТОД БОРЬБЫ С ВРЕДНЫМИ КЛЕТКАМИ A New Method of Fighting Harmful Cells

Майков А.И. Болтовская П.Е.

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, РФ, *semenov.999999@yandex.ru*

Актуальность. Одно из заболеваний, которое до недавнего времени считалось летальным – рак крови. Для лечения применялся ряд методов, включая и радиотерапию, однако последний наряду с достоинствами имеет ряд недостатков.

Цель исследования. Основная цель исследования – совершенствование радиационного метода лечения рака крови.

Материалы и методы. Существуют следующие лучевые методы лечения рака крови на ранних стадиях этого заболевания:

- Лучевая терапия внешним пучком;
- Интенсивно-модулированная терапия;
- Лучевая терапия с визуальным контролем;
- Интраоперационная лучевая терапия;
- Нейтронно-лучевая терапия;
- Внутренняя лучевая терапия.

Предложен один из методов снижения опасности и побочных действий лучевых методов.

Результаты и их обсуждения. Систематизированы результаты многократных предложений по усовершенствованию лучевых методов лечения на основе чего сделано предложения пропускать радиоактивное излучение от источника нейтронов и протонов через движущуюся кровь. Согласно результата экспериментов на жидкостях— кровезаменителях: скорость прокачки биологической жидкостей вблизи источников радиоактивного излучения поглощения излучения усиливается, что ведет к повышению эффективности внешней лучевой терапии.

Выводы. Таким образом, результаты экспериментального исследования позволяютсказать: методуменьшениягидравлическогосопротивленияспомощьювоздействиязвуком высокой частоты на очень тонкие эластичные трубки (модели артерий) может быть использован для местного увеличения расхода жидкости.

## ХЕМОМЕХАНИЧЕСКИЙ АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНЫЙ ГЕЛЬ, ПРИВОДИМЫЙ В ДВИЖЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫМИ КОЛЕБАНИЯМИ КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ТЕРПИРИДИНОМ

Chemomechanical Self-Oscillating Gel Drived by Redox Oscillations of Iron-Terpyridine Complex

Мальфанов И.Л.<sup>1</sup>, Проскуркин И.С.<sup>1</sup>, Сычев А.В.<sup>2</sup>, Лаврова А.И.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Балтийский Федеральный Университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ, *ilogim@list.ru*

<sup>2</sup> Курский государственный университет, г. Курск, РФ

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт Фтизиопульмонологии, г. Санкт-Петербург, РФ

Автоколебательные хомеханические гели (БЖ гели) привлекают большое внимание химиков, биологов и инженеров [1,2] из-за их уникальных свойств – проявлять автономные колебания размеров при протекании внутри геля реакции Белоусова-Жаботинского (БЖ). Обычно БЖ гели создаются путем ковалентного связывания комплексов рутения с биридином или железа с фенантролином со сшитым поли(N-изопропилакриламидом). При помещении такого геля в раствор, содержащий бромат, малоновую и серную кислоты, гель периодически набухает при окислении комплекса и сжимается при его восстановлении, что приводит к автономным хемомеханическим колебаниям, синхронизированным с изменениями степени окисления. В научной литературе

существуют также примеры БЖ гелей [3], включающие комплексы рутения с терпиридином, но не было упоминания о БЖ гелях на основе комплексов железа с терпиридином.

Мы синтезировали новый автоколебательный гель (1) на основе комплекса железа с  $1^2,2^2:2^6,3^2$ -терпиридином, протестировали его хемомеханическое поведение при протекании БЖ реакции внутри геля и создали на его основе актуатор, демонстрирующий периодические колебания металлической пластинки. Гель был синтезирован радикальной сополимеризацией  $(1^2,2^2:2^6,3^2$ -терпиридин)(*N*-[3-(проп-2-енамидо)пропил][ $1^2,2^2:2^6,3^2$ -терпиридин]-2<sup>4</sup>-карбоксамид)железа(II) сульфата с *N*-изопропилакриламидом, 2-акриламидо-2-метилпропансульфокислотой и *N,N'*-метиленбисакриламидом. При погружении геля в раствор, содержащий бромат натрия, малоновую и серную кислоты, он демонстрировал значительные хемомеханические колебания с периодическим изменением линейного размера до 17%.

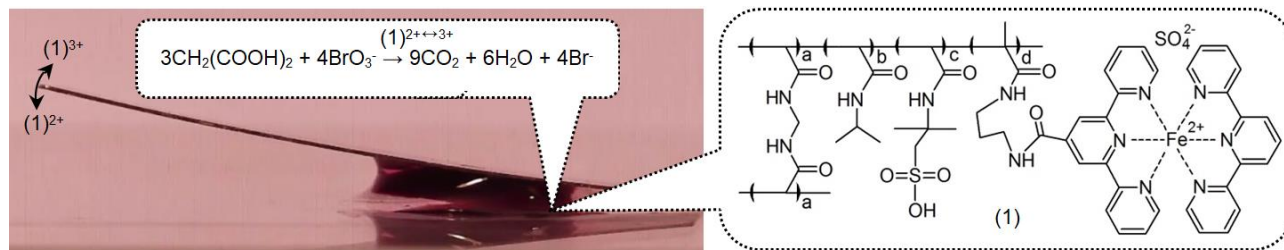


Рисунок 1. Движение актуатора. При протекании в геле БЖ реакции (верхняя вставка), периодические окислительно-восстановительные переходы  $[(1)^{2+} \leftrightarrow 3^+]$  комплекса в геле (1) (правая вставка) приводят к периодическим набуханиям и сжатиям геля, а они, в свою очередь, приводят к колебаниям положения металлической пластины. Раствор реагентов: [малоновая кислота] = 0.15 М, [NaBrO<sub>3</sub>] = 0.3 М, [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] = 0.25 М

На основе геля (1) был создан простой актуатор (рис. 1), путем помещения металлической пластинки (размеры 11400×2600×100 мкм, вес 18 мг) на кусочек геля (объемом 6 мм<sup>3</sup>), пропитанный раствором компонентов БЖ реакции. При протекании БЖ реакции, гель периодически расширялся и сжимался, заставляя пластинку менять свое положение в пространстве вслед за изменениями размеров геля. Изменение высоты левого края пластинки составило 117 мкм. Были рассчитаны частота и амплитуда затухающих колебаний геля. В заключение хотелось бы отметить, что созданный гель открывает возможности для создания актуаторов и хемомеханических устройств, включая самодействующие гелевые насосы и двигатели на основе гидрогеля.

1. Yoshida, R. Creation of softmaterials based on self-oscillating polymer gels // *Polymer Journal*, 2022, vol. 54, pp. 827-849, doi: 10.1038/s41428-022-00638-8.

2. Mallphanov I.L., Vanag V.K. Chemical micro-oscillators based on the Belousov–Zhabotinsky reaction // *Russian Chemical Reviews*, 2021, vol. 90, p. 1263, doi: 10.1070/RCR5009.

3. Zhou H., Yang Y., Xu G. et al. Ru(II)(tpy)2-functionalized hydrogels: Synthesis, reversible responsiveness, and coupling with the belousov-zhabotinsky reaction // *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2015, vol. 53, pp. 2214-2222, doi: 10.1002/pola.27690.

## СЕРОВОДОРОД И ЗАЩИТНЫЙ ОТВЕТ ЭПИКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В СТРУКТУРЕ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ ПРИ СТРЕССОВОМ НЕДОСТАТКЕ ВОДЫ Hydrogen Sulfide and the Protective Response of Pea Seedling Epicotyls in the Structure of Mitochondrial Membranes under Stressful Water Deficiency

Неврова О.В.<sup>1</sup>, Герасимов Н.Ю.<sup>1</sup>, Жигачева И.В.<sup>1</sup>, Генерозова И.П.<sup>2</sup>, Голощанов А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, г. Москва, РФ, [n.yu.gerasimov@gmail.com](mailto:n.yu.gerasimov@gmail.com)

<sup>2</sup> Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва, РФ

Стресс является одним из факторов, определяющих скорость роста и развития растений. Влияние стресса может вызывать накопление активных форм кислорода, усиливать пероксидное окисление липидов мембран в листьях растений. Неудивительно, что в этих условиях активизируется сигнальная система защиты растений, где на сероводород возложена одна из главных ролей. В ответ на стресс сероводород активирует и регулирует активность антиоксидантных ферментов: аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы, гваяколпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы, что приводит к снижению уровня активных форм кислорода и продуктов окисления липидов в клетках растений.

Таким образом, целью работы является изучение изменения структуры мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха в условиях дефицита воды (стресс), при предварительной обработке семян

раствором NaHS. Работу проводили на митохондриях пятидневных этилированных проростков гороха (*Pisum sativum* L), сорт Немчиновская 100. Для оценки структуры мембран были получены температурные зависимости времен вращательной корреляции нитроксильных зондов 2,2,6,6-тетраметил-4-каприлоилоксиперидин-1-оксил (I) и 5,6 бензо-2,2,6,6-тетраметил-1,2,3,4-тетрагидро- $\gamma$ -карболин-3-оксил (II) для контрольной группы и при воздействии NaHS в дозах  $6 \cdot 10^{-3}$  М,  $2 \cdot 10^{-4}$  М и  $5 \cdot 10^{-6}$  М. По расположению зондов в липидном бислое можно судить о липид-белковых взаимодействиях в мембранах.

Обработка семян NaHS в дозах  $5 \cdot 10^{-6}$  М и  $2 \cdot 10^{-4}$  М увеличивала микровязкость на фоне уменьшения кристалличности обеих областей мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха. Это, по-видимому, связано с активацией накопления осмолитов, в результате чего, вероятно, уменьшался объем митохондрий, что приводило к уменьшению площади поверхности липидного бислоя, а значит к более плотной упаковке липидов. На фоне этого воздействие NaHS приводило к активации антиоксидантных ферментов. В результате количество АФК уменьшалось. Это, в свою очередь, приводило к накоплению ненасыщенных жирных кислот, тем самым, приводя к уменьшению кристалличности липидного бислоя. NaHS в концентрации  $6 \cdot 10^{-3}$  М оказывал токсичное воздействие на структуру липидного бислоя. В условиях дефицита воды эффективность окислительного фосфорилирования снижалась на 30%. При этом обработка семян NaHS в дозе  $5 \cdot 10^{-6}$  М не приводила к восстановлению биоэнергетических характеристик митохондрий до контрольных значений.

### МЕХАНИЗМ РАССОГЛАСОВАНИЯ ЭМИССИИ АФК РАЗНЫХ ТИПОВ МИТОХОНДРИЯМИ: ВОЗМОЖНАЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

#### Mechanism of the Mismatched Emission of Different Types of ROS by Mitochondria: Possible Physiological Role

Никифорова А.Б.<sup>1</sup>, Соловьева М. Е.<sup>1</sup>, Акуленко М.В.<sup>1</sup>, Афанасьев В.Н.<sup>2</sup>, Харечкина Е.С.<sup>1</sup>, Круглов А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, [krugalex@rambler.ru](mailto:krugalex@rambler.ru)

<sup>2</sup> Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ

При низкой ионной проницаемости внутренней мембраны митохондрий и при высокой концентрации субстратов дыхания наблюдается высокая степень восстановленности компонентов дыхательной цепи (ДЦ), которая способствует усилению продукции активных форм кислорода (АФК) [1]. Отдельные АФК-генерирующие комплексы митохондрий демонстрируют более сложный паттерн продукции АФК. Продукция  $H_2O_2$  комплексом I дыхательной цепи и дигидролипоамиддегидрогеназой максимальна при высокой концентрации NADH и низком редокс потенциале последнего, тогда как оптимум продукции супероксид аниона (СА) наблюдается при более низких соотношениях NADH/NAD [2, 3]. В митохондриях живых клеток может наблюдаться резкое спонтанное ускорение продукции СА продолжительностью от секунд до десятков секунд - СА-вспышки или митовспышки. Частота вспышек может возрастать или снижаться в зависимости от присутствия субстратов дыхания, оксидантов/антиоксидантов, разобщителей, ингибиторов/активаторов неспецифической  $Ca^{2+}$ -зависимой митохондриальной поры (РТР) [4,5]. СА-вспышки могут синхронизироваться и распространяться между митохондриями клетки в виде «волны дисфункции» - постоянной или временной деполаризации органелл [6].

Мы изучили кинетику выхода СА (SOD-чувствительная хемилюминесценция MCLA) и  $H_2O_2$  (окисление Amplex Red) из митохондрий при открывании РТР и модуляции метаболического состояния митохондрий. Было показано, что индукция РТР приводит к подавлению генерации  $H_2O_2$  и активации продукции СА. При ингибировании РТР, тип эмитируемых АФК определялся уровнем субстратов дыхания и окислительного фосфорилирования и селективными ингибиторами дыхательных комплексов. В митохондриях с мембранами, пермеабелизованными аламетицином или вследствие индукции РТР, вспышки СА наблюдались только после значительного положительного сдвига редокс потенциала добавленных NADH и NADPH: до -325 - -270 мВ и -315 - -295 мВ, соответственно. Паттерны эффектов внутри- и внеклеточных скавенджеров СА и  $H_2O_2$  на флуоресценцию СА- и  $H_2O_2$ -селективных зондов в клетках линии Vero существенно различались при инкубации в среде с высоким и низким содержанием глюкозы.

Полученные данные говорят о возможности редокс-зависимого переключения типа эмитируемого митохондриями АФК сигнала, что является необходимым условием для существования СА- и  $H_2O_2$ -селективного АФК-сигналинга [7].

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 24-24-00522) с использованием оборудования ЦКП «Оптическая микроскопия и спектрофотометрия» ИБК РАН Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук».*

1. Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria // *FEBS Letters*, 1997, vol. 416, no. 1, doi: 10.1016/s0014-5793(97)01159-9.

2. Grivennikova V.G., Vinogradov A.D. Partitioning of superoxide and hydrogen peroxide production by mitochondrial respiratory complex I. // *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, vol. 1827, no. 3, doi: 10.1016/j.bbabi.2013.01.002.

3. Kareyeva A.V., Grivennikova V.G., Vinogradov A.D. Mitochondrial hydrogen peroxide production as determined by the pyridine nucleotide pool and its redox state // *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, vol. 1817, no. 10, doi: 10.1016/j.bbabo.2012.03.033.
4. Wang W., Fang H., Groom L. et al. Superoxide flashes in single mitochondria // *Cell*, 2008, vol. 134, no. 2, doi: 10.1016/j.cell.2008.06.017.
5. Wei L., Salahura G., Boncompagni S. et al. Mitochondrial superoxide flashes: metabolic biomarkers of skeletal muscle activity and disease // *The FASEB Journal*, 2011, vol. 25, no. 9, doi: 10.1096/fj.11-187252.
6. Kuznetsov A.V., Javadov S., Saks V. et al. Synchronism in mitochondrial ROS flashes, membrane depolarization and calcium sparks in human carcinoma cells // *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics*, 2017, vol. 1858, no. 6, doi: 10.1016/j.bbabo.2017.03.001.
7. Hao S., Cai D., Gou S., et al. Does each Component of Reactive Oxygen Species have a Dual Role in the Tumor Microenvironment? // *Current Medicinal Chemistry*, 2024, vol. 31, no. 31, doi: 10.2174/0929867331666230719142202.

## НЕФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ ПОЛИСАХАРИДОВ В КЛЕТКЕ

### Non-Enzymatic Hydrolysis of Polysaccharides in the Cell

Погорелов А.Г., Панаит А.И., Станкевич А.А., Патласов Н.О., Погорелова В.Н.  
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ

Некоторые методы биологической физики рассматривают клетку как каплю белково-электролитного водного раствора, заключенную в липидную оболочку. Иногда такое приближение соответствует заданным условиям, например, в области электрофизиологии. Однако, несмотря на микронные размеры, клетка представляет собой сложную структурированную систему, содержащую функционально разные органеллы, активность которых детерминирована локальными физико-химическими условиями микроокружения. Сложившееся в цитоплазме равновесие между акцепторами и донорами электронов определяет окислительно-восстановительный баланс, влияющий на физиологию клетки.

На современном этапе биологической эволюции характерно наличие высокой концентрации кислорода в среде обитания, что реализуется в энергообеспечении клеточных функций через синтез АТФ в митохондриях. В клетке также действует менее эффективный механизм производства АТФ – гликолиз, который ускоряется в десятки раз при анаэробных условиях. Этого достаточно, чтобы поддерживать основные функции клетки, но требует дополнительного поступления глюкозы. В условиях гипоксии меняется redox статус цитоплазмы, что может стимулировать не ферментативный гидролиз полисахаридов, депонированных в клетке в виде гранул гликогена.

## МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ПЕРВИЧНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ ИЗ НЕОНАТАЛЬНЫХ МЫШЕЙ

### A Method for Obtaining Primary Cardiomyocytes from Neonatal Mice

Подгурская А.Д., Агладзе К.И.  
ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт  
им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, РФ, [alisapodgurskaya@mail.ru](mailto:alisapodgurskaya@mail.ru)

В связи с высокой смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний в России актуальна разработка и тестирование кардиопротективных лекарственных средств наряду с тестированием кардиотоксичности. За последние годы клеточные технологии получили широкое развитие в биомедицине. Наиболее приближенными по физиологическому отклику моделями сердечной ткани являются первичные кардиомиоциты животных и человека, и кардиомиоциты, полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Получение кардиомиоцитов из ИПСК пациентов связано с трудоемкими, дорогостоящими рабочими процессами, и протокол их получения не стандартизирован между научными группами. Получение первичных кардиомиоцитов человека трудозатратно и более экономично, однако данные клетки имеют ограниченное время жизни *in vitro*, что не позволяет использовать их для полноценного скрининга лекарств.

Кардиомиоциты, полученные из неонатальных животных, остаются жизнеспособны и функциональны *in vitro* вплоть до 15 дней, а спустя сутки после начала культивирования начинают спонтанно сокращаться и обретают поперечно-полосатую исчерченность. Это делает их удобной моделью для исследования острых и хронических эффектов лекарств.

Разработан метод выделения кардиомиоцитов из неонатальных мышей с помощью ферментативной обработки трипсином и коллагеназой 2 типа.

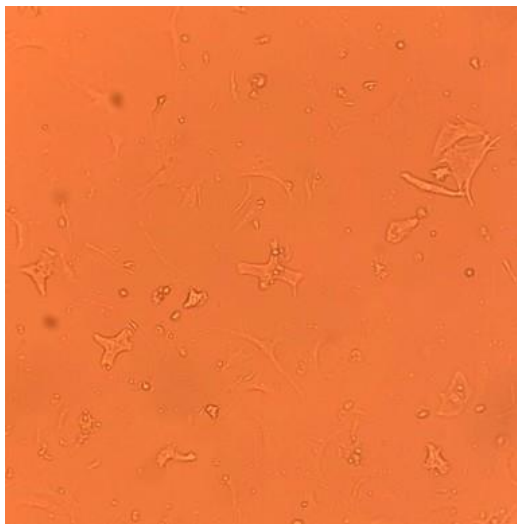


Рисунок 1. Изолированные первичные кардиомиоциты неонатальных мышей, высеянные на пластиковую подложку, предварительно покрытую фибронектином

## НЕЙРОМОРФНОЕ ХИМИЧЕСКОЕ УСТРОЙСТВО НА ОСНОВЕ РЕАКЦИИ БЕЛОУСОВА-ЖАБОТИНСКОГО

### Neuromorphic Chemical Device Based on the Belousov-Zhabotinsky Reaction

Проскуркин И.С., Ефимов А.А., Сафонов Д.А., Мальфанов И.Л., Лаврова А.И.

Центр прикладной нелинейной динамики БФУ им. И. Канта, г. Калининград, РФ, *isproskurkin@gmail.com*

Развитие искусственного интеллекта (ИИ) остаётся одним из ключевых направлений современной науки. Перспективный подход к проектированию ИИ основан на принципах, лежащих в основе работы биологических нейронных сетей. Однако изучение этих сетей сопряжено со значительными методологическими и экономическими трудностями, что обуславливает необходимость поиска альтернативных моделей [1]. Химические осцилляторы, основанные на реакции Белоусова–Жаботинского (БЖ), способны воспроизводить важнейшие нейронные функции и служить основой для создания нейроморфных устройств.

В данной работе представлена разработка нейроподобных элементов, реализованных в реакционно-диффузионной среде на основе реакции Белоусова–Жаботинского (БЖ): химического диода [2], триггера и затвора. Эти элементы изготовлены методом фотополимеризации акриламидного геля [3] с катализаторами реакции БЖ, нанесённого на стеклянную поверхность. Управляя геометрическими параметрами среды, как предсказывается математическим моделированием, можно установить требуемый порог возбудимости, что позволяет создавать элементы с разнообразными функциональными свойствами: однонаправленным распространением химических волн, детектированием совпадения волн и управлением распространением волн внешними сигналами. Интегрируя эти элементы в единую схему, мы экспериментально демонстрируем работу автономного химического устройства, способного самостоятельно определять свой внутренний динамический ритм: синфазный или противофазный.

1. Duenas-Diez M., Perez-Mercader J. Native chemical computation. A generic application of oscillating chemistry illustrated with the Belousov-Zhabotinsky reaction. A review // *Frontiers in Chemistry*, 2021, vol. 9, p. 611120.

2. Safonov D., Proskurkin I., Mallphanov I., Lavrova A. A chemical diode for neuromorphic computing: design, simulation, and experimental validation of unidirectional signal transmission // *The European Physical Journal Special Topics*, 2025.

3. Mallphanov I., Vanag V., Lavrova A. A new visible light-sensitive, oxygen-tolerant photoinitiator system for the synthesis of polyacrylamide gels by maskless photopolymerization // *Mendeleev Commun.*, 2024, vol. 34, no. 2, pp. 235-237.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АПТАМЕРА В НОРМАЛЬНЫХ И РАКОВЫХ КЛЕТКАХ С ПОМОЩЬЮ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

### Study of the Intracellular Distribution of an Aptamer in Normal and Cancer Cells using Confocal Microscopy

Рашенкова И.И., Мегер Я.В., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [lantushenko@mail.ru](mailto:lantushenko@mail.ru)

Химиотерапия рака прошла путь от использования цитотоксических препаратов, которые сопровождаются вредными и зачастую опасными для жизни побочными эффектами, до применения таргетных комплексов, которые более специфичны для опухоли и, как правило, значительно менее токсичны [1]. Одним из новых перспективных направлений является использование ДНК-аптамеров, которые по сравнению с белковыми антителами обладают рядом преимуществ, а именно простотой получения, стабильностью и специфичностью связывания с клеточными мишенями [2].

Было показано, что в раковых клетках имеет место повышенное содержание поверхностного и цитоплазматического белка нуклеолина (NCL), а в нормальных клетках более высокая концентрация ядрышкового NCL, т.е. изменение в распределении внутриклеточного нуклеолина тесно связано с процессом канцерогенеза [3].

В данной работе было исследовано внутриклеточное распределение аптамера к нуклеолину с использованием культуры здоровых клеток (ECV, перевиваемая линия человеческих эндотелиальных клеток века) и клеточной линии HeLa (рак шейки матки). Синтез нуклеолинового аптамера с флуоресцентной меткой Cy5 осуществлен компанией «ДНК-синтез».

Культивирование клеточных линий производилось с использованием полной питательной среды DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и 1% антибиотиков (пенициллин, стрептомицин). Культура поддерживалась при температуре воздуха 37 °С, влажности 90%, концентрации CO<sub>2</sub> – 5% в культуральных флаконах объёмом 25мл (Eppendorf, США), размещенных в культиваторе Binder (Германия).

Обработка культур клеточных линий осуществлялось по следующим методикам:

Вариант 1. Клетки выращивались в конфокальной чашке до 50% заполнения, далее среда удалялась и клетки трижды отмывались с использованием PBS. Затем добавлялся раствор аптамера (с концентрацией 1 мМ), клетки инкубировались 15 минут в темноте с последующей трехкратной отмывкой несвязавшегося аптамера.

Вариант 2. Клетки выращивались в конфокальной чашке до 50% заполнения, далее среда удалялась и клетки трижды отмывались с использованием PBS. Затем добавлялся 4% раствор формальдегида с последующей 20-минутной инкубацией при комнатной температуре. После этого раствор формальдегида удалялся, и клетки помещались на 10 минут в 3% раствор BSA. После трехкратной отмывки добавлялся раствор аптамера (с концентрацией 1 мМ), клетки инкубировались 15 минут в темноте с последующей трехкратной отмывкой несвязавшегося аптамера.

После этого клетки дополнительно окрашивались флуоресцентным красителем Hoechst 33342, что позволило визуализировать клеточные ядра. Наилучшие результаты (хорошая форма клеток, меньшая фоновая флуоресценция аптамера) были получены при втором варианте окрашивания.

Клетки анализировались на лазерном конфокальном сканирующем микроскопе Leica stellaris 5 (Германия). Возбуждение флуоресценции аптамера проводилось лазером с длиной волны 643нм, для Hoechst 33342 использовался лазер с длиной волны 411нм, регистрация флуоресценции аптамера осуществлялась на 665нм, а Hoechst – 629нм. Интерпретация интенсивности флуоресценции, внутриклеточного распределения препаратов выполнена в программе LAS X Office.

При окрашивании клеточной культуры HeLa флуоресценция аптамера неоднородна в разных частях клетки, при этом наибольшая флуоресценция наблюдается по контуру ядра и в цитоплазме

Для клеток линии ECV характерна в целом менее интенсивная флуоресценция с примерно равномерным распределением аптамера внутри клетки.

Таким образом, наблюдается более высокое содержание нуклеолина в раковых клетках с преимущественной внеядерной локализацией, на следующем этапе работы исследования будут проведены на других клеточных линиях и будет количественно оценена флуоресценция аптамера в различных клеточных локализациях.

*Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 23-73-00130 «РН/АТФ-зависимая активация конъюгатов ДНК-аптамеров с эндофуллереами для терапии рака».*

1. David A., Molly L., Jack C. Toxicity issues in cancer drug development // Curr. Opin. Investig. Drugs, 2010, vol. 11 (6), pp. 612-614.

2. Глазырин Ю.Е., Кичкайло А.С. Аптамеры–молекулярные «ключи» медицины // Наука из первых рук, 2025, т. 2025, № 1, с. 103.

3. Yingying J., Mingjun C., Lulu Z. et al. Aptamer AS1411 utilized for super-resolution imaging of nucleolin // Talanta, 2020, vol. 217, doi: 10.1016/j.talanta.2020.121037.



**ИМПУЛЬСНОЕ МАГНИТНОЕ ПОЛЕ ВЫСКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ КАК  
АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ МЕТОД СНИЖЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ  
МИКРООРГАНИЗМОВ *ESCHERICHIA COLI* M-17 И *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*  
Pulsed magnetic field of high intensity as an alternative method for reducing the viability of microorganisms  
*Escherichia coli* M-17 and *Saccharomyces cerevisiae***

**Роденко Н.А.<sup>1</sup>, Бледных О.В.<sup>1</sup>, Васильева Т.И.<sup>1,2</sup>, Кияметдинова Р.Р.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Самарский федеральный исследовательский центр РАН, г. Самара, РФ, [t.rodenko@mail.ru](mailto:t.rodenko@mail.ru)

<sup>2</sup> Самарский государственный технический университет, г. Самара, РФ

Импульсные магнитные поля (ИМП) обладают выраженным биологическим действием, они влияют на клеточную мембрану, ферментативную активность и процессы деления. Понимание механизмов воздействия физических факторов, включая магнитные поля на микроорганизмы, может открыть новые перспективы для контроля их роста, что важно, как для биотехнологического производства, так и для борьбы с патогенными микроорганизмами. Применение ИМП может дать потенциал для открытия новых методов регуляции роста микроорганизмов по сравнению с химическими, радиационными и ультразвуковыми воздействиями. Кроме того, исследования эффектов ИМП на пролиферативную активность микроорганизмов может внести вклад в развитие способов стерилизации и консервации, что особенно актуально в контексте растущей устойчивости бактерий к антимикробным средствам и фитопатогенных грибов к фунгицидам.

Объектами исследования являлись два вида микроорганизмов: грамотрицательные бактерии *Escherichia coli* M-17 и дрожжевая культура *Saccharomyces cerevisiae*. Микроорганизмы обрабатывались ИМП при индукциях В~5 Тл с количеством импульсов n=5. Жизнеспособность бактериальных клеток определяли методом расчета колониеобразующих единиц (КОЕ) [1], оценку жизнеспособности дрожжевой культуры проводили методом окрашивания метиленовым синим для выявления погибших клеток, подсчет проводили при 1000х увеличении микроскопа [2].

Таблица 1. Изменение жизнеспособности микроорганизмов после воздействия ИМП

<i>Escherichia coli</i> M-17				<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			
Число клеток, КОЕ/мл		Выживаемость клеток %		Общее число клеток, 10 <sup>7</sup> /мл		Выживаемость клеток %	
Контроль	В ~ 5 Тл	Контроль	В ~ 5 Тл	Контроль	В ~ 5 Тл	Контроль	В ~ 5 Тл
764×10 <sup>2</sup>	504×10 <sup>2</sup>	100	65,9	2,95	3,90	100	77,7

В результате проведенных исследований (табл. 1) у обоих микроорганизмов наблюдается снижение жизнеспособности клеток на 65,9-77,7%. Снижение жизнеспособности бактериальной культуры отмечается при обработке ИМП с 60 секундным интервалом после однократного воздействия n=1 с дальнейшим непрерывным воздействием n=4. В отношении дрожжевой культуры ответ на воздействие ИМП отмечался при непрерывном воздействии с числом импульсов n=5.

Возможно, обработка магнитным полем оказывает влияние на целостность мембран клеток, вызывает перераспределение зарядов на клеточной мембране и при достаточной напряженности магнитного поля способствует возникновению микропор, через которые входят или выходят ионы и макромолекулы, что приводит к потере жизнеспособности, а также может происходить развитие окислительного стресса [3]. Данный метод можно адаптировать через проведение дополнительных исследований в качестве метода стерилизации пищевых продуктов без потери пищевой ценности.

1. Clarke M.L., Burton R.L., Hill A.N. et al. Low-cost, high-throughput, automated counting of bacterial colonies // Cytometry Part A, 2010, vol. 77A, no. 8, doi: 10.1002/cyto.a.20864.

2. Lin L., Wang X.L., He R.H., Cui H.Y. Action mechanism of pulsed magnetic field against *E. coli* O157:H7 and its application in vegetable juice // Food Control, 2019, no. 95, doi: 10.1016/j.foodcont.2018.08.011.

3. Rekena A., Livkisa D., Kamolins E. et al. Biopharmaceutical-Type Chinese Hamster Ovary Cell Cultivation Under Static Magnetic Field Exposure: A Study of Genotoxic Effect // Front. Bioeng. Biotechnol. 2021, no. 9, doi: 10.3389/fbioe.2021.751538.

## ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ПОИСКА АЗУЛЕН-СОДЕРЖАЩИХ РАСТЕНИЙ АРИДНОЙ ЗОНЫ КАЛМЫКИИ

### Application of Spectral Methods for Searching for Azulene-Containing Plants in the Arid Zone of Kalmykia

Рощина В.В.<sup>1</sup>, Богун С.А.<sup>2</sup>, Абушин А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН,  
г. Пущино, Московская обл., РФ, [roshchinavic@mail.ru](mailto:roshchinavic@mail.ru)

<sup>2</sup> ФБГУН Государственный заповедник «Черные земли», пос. Комсомольский, Республика Калмыкия, РФ,  
[sergeibogun1984@yandex.ru](mailto:sergeibogun1984@yandex.ru), [kalmykianbubo@gmail.com](mailto:kalmykianbubo@gmail.com)

До настоящего времени единственным методом обнаружения и выделения азуленов в фармации была дистилляция эфирных масел [1]. С 2023 года разрабатывается новый подход к поиску этих пигментов в растениях с применением спектральных методов клеточного анализа [2]. В рамках этой проблемы регистрировали спектры поглощения как первую производную спектров отражения, что позволило выявлять в интактных листьях максимумы собственные азуленам (показано на рисунке ниже). Использование микроспектрофотометрии позволило обнаружить присутствие этих синих пигментов по характерной голубой окраске поверхностей клеток и максимумам в области 580-640 нм в спектрах поглощения и 405-430 нм в спектрах флуоресценции интактных листьев растений аридной зоны Калмыкии *Artemisia aronaria* D.C., *Artemisia pauciflora* Web., *Astragalus longipetalus* Chapter., *Astragalus subulatus* Pall., *Prangos pabularia* Lindl. (*Salvia aethiopis* L., *Serratula erucifolia* (L.) Boriss., *Stipa lessengiana* Trin&Rupr., *Tulipa australis* Link (*T. sylvestris* Link. (Link) Pamp., *Tulipa suaveolens* (*T. schrenkii*) Rott., *Verbascum phoeniceum* L. Это было подтверждено в экспериментах с экстрактами этих гидрофобных пигментов растворителями ацетоном или этанолом с поверхности листьев и изнутри. Результаты могут представлять интерес для экомониторинга этих соединений – антиоксидантов, защищающих растения от ультрафиолетовой радиации, озона, и всех неблагоприятных факторов, что вызывают повреждения образующимися активными формами кислорода. Поиск новых азулен-содержащих растений по голубой окраске листьев и спектрам их поглощения также важен для фармакологии.

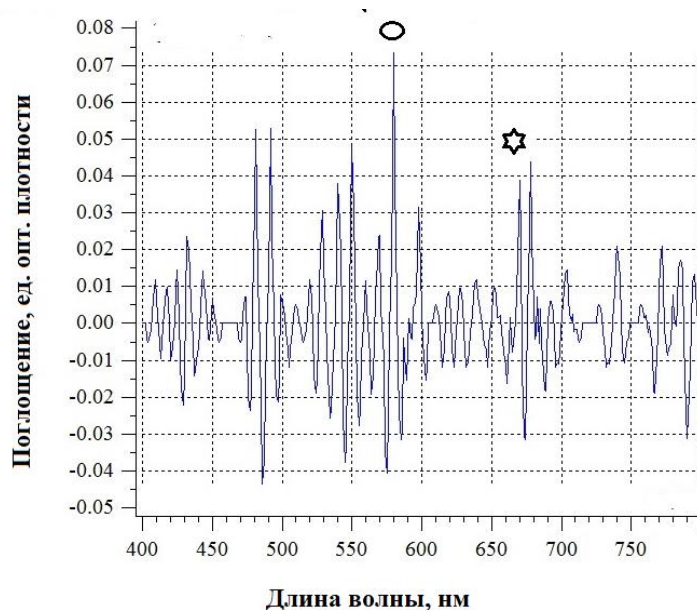


Рисунок 1. Спектр поглощения верхней поверхности интактного листа ковыля Лессинга *Stipa lessengiana* как первая производная спектра отражения. Кружком отмечен максимум поглощения 580 нм, свойственный азуленам, а звездочкой – максимум хлорофилла 666 нм. Для анализа используют только верхнюю часть графика с положительными значениями

1. Коновалов Д.А. Природные азулены // Растительные ресурсы, 1995, т. 31, № 1, с.101-130.

2. Рощина В.В., Яшин В.А., Куньев А.Р. Исследование спектральных характеристик поверхности растительной клетки: присутствие азуленов и биогенных аминов // Биологические мембраны, 2023, т. 40, № 5, с. 351-361.



# МЕТОД ЭМПИРИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ ОБЪЕКТОВ МАТЕРИАЛЬНОГО МИРА

## Empirical Method for Assessing the Chirality of Material World Objects

Сапельников Е.А.<sup>1</sup>, Сидорова А.Э.<sup>1</sup>, Устинин М.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ,  
sapelnikov.ea22@physics.msu.ru, sky314bone@mail.ru

<sup>2</sup> Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, г. Москва, РФ, ustinin@impb.ru

Симметрия представляется одним из фундаментальных свойств природы и широко используется для понимания общих физических закономерностей на различных уровнях организации материи. Одной из ключевых категорий в системе симметрий-асимметрий является хиральность. Явление хиральности отмечено для различных абиогенных и биогенных систем. Основной проблемой количественной оценки хиральности пространственных структур является выбор реперных точек, которые не должны подвергаться серьезным флуктуациям. Однако существуют системы, в которых выбрать конкретный объект в качестве опорной точки довольно сложно. Примерами могут служить распределенные системы. В настоящей работе предложен метод эмпирической оценки хиральности трехмерных распределенных структур на примере спиральных структур белков и галактического рукава Ориона галактики Млечный путь.

Все представленные в научной литературе методы оценки хиральности не позволяют однозначно оценивать знак и степень хиральности молекулярных структур белков, узко специализированы и, как правило, являются трудоемкими с точки зрения вычислений. Разработанный нами метод оценки хиральности спиральных структур белков основан на взаимном расположении  $\alpha$ -углеродов ( $C^\alpha$ ) – опорных точек метода (данные PDB) и векторных произведениях [1]. Для  $n$  атомов  $C^\alpha$  рассчитывается сумма векторов между атомами  $C^\alpha$  – вектор  $\mathbf{d}$ , сумма векторных произведений – вектор  $\mathbf{s}$  и знак хиральности –  $\cos\angle(\mathbf{d}; \mathbf{s})$

$$\mathbf{C}_1^\alpha \mathbf{C}_2^\alpha + \mathbf{C}_2^\alpha \mathbf{C}_3^\alpha + \dots + \mathbf{C}_{(n-1)}^\alpha \mathbf{C}_n^\alpha = \sum_{i=1}^{n-1} \mathbf{C}_i^\alpha \mathbf{C}_{(n-1)}^\alpha = \mathbf{d}, \quad \sum_{i=1}^{n-2} [\mathbf{v}_i \times \mathbf{v}_{i+1}] = \mathbf{s}, \quad \cos\angle(\mathbf{d}; \mathbf{s}) = \frac{\mathbf{d} \cdot \mathbf{s}}{|\mathbf{d}| \cdot |\mathbf{s}|}. \quad (1)$$

При  $\cos\angle(\mathbf{d}; \mathbf{s}) < 0$  – закрутка левая, при  $\cos\angle(\mathbf{d}; \mathbf{s}) > 0$  – закрутка правая.  $|\mathbf{s}|$  – абсолютная величина суммы векторных произведений отражает количество витков спирали. Значение хиральности рассчитывается как:

$$\chi_{norm} = \frac{\chi_{total}}{(n-2) \cdot |\mathbf{v}|_{mean}^2} = \frac{\text{sign}[\cos\angle(\mathbf{d}, \mathbf{s})] \cdot |\mathbf{s}|}{(n-2) \cdot |\mathbf{v}|_{mean}^2}. \quad (2)$$

Этот метод применим для оценки хиральности галактических рукавов как 3-хмерных материальных объектов. Однако, все представленные в научной литературе методы рассматривают закрутку спиральных рукавов галактик в двумерном пространстве [2], что, соответственно, не связано с хиральностью объектов. Согласно нашему методу, сферические координаты каждой звезды на отрезке рукава Ориона переводятся в декартовые:

$$x = \text{distance} \cdot \sin(dec) \cos(ra), \quad y = \text{distance} \cdot \sin(ra) \sin(dec), \quad z = \text{distance} \cdot \cos(dec). \quad (3)$$

Для оси X сфера в радиусе 2 тысяч световых лет от Земли делится на секторы поперек оси X дисками толщиной с интервалом 20 световых лет. Поскольку в крайние секторы попадает малое количество звезд, отбрасываются ячейки, расстояние от которых до Земли более  $0,7 R$  ( $R$  – радиус сферы). Для звезд, попавших в один сектор (4 - 12 тысяч звезд), находятся средние значения  $x, y, z$ . Дополнительное сглаживание обеспечивается усреднением координат соседних точек:  $(x_1 + x_2)/2, (y_1 + y_2)/2, (z_1 + z_2)/2$  – опорные точки метода. Векторы  $\mathbf{d}$  и  $\mathbf{s}$ , и знак хиральности рукава Ориона рассчитываются по формулам (1), численное значение хиральности – по формуле (2). Для цилиндрических областей с осями X, Y, Z:  $\chi_{norm} \approx -0,053$  (X),  $\chi_{norm} = -0,047$  (Y),  $\chi_{norm} = -0,00159$  (Z). Расчеты показывают, что знак хиральности не меняется в зависимости от выбора осей, что свидетельствует об объективности метода определения знака хиральности трехмерной структуры, и рукав Ориона – распределенная левоспиральная система.

Метод может расчета хиральности спиральных структур белков может быть применен в области биоинженерии и для создания лекарственных препаратов на основе белковых структур разной хиральности. Исследование хиральности рукава галактики может быть полезно для развития теории появления спиральных рукавов.

1. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Kotov A.R. et al. Quantitative Criteria of Chirality in Hierarchical Protein Structures // Biophysics, 2019, vol. 64, no 2, doi: 10.1134/S0006350919020167.

2. Савченко С.С. Об оценке угла закрутки спиральных ветвей галактик // Астрофизический бюллетень, 2012, т. 39, № 11, doi: 10.7868/S0320010813110016.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ОДНОНАПРАВЛЕННОЙ ПРОХОДИМОСТИ АВТОВОЛН В АСИММЕТРИЧНЫХ ВОЗБУДИМЫХ СРЕДАХ НА ОСНОВЕ РЕАКЦИИ БЕЛОУСОВА-ЖАБОТИНСКОГО

## Analysis of Unidirectional Wave Propagation in Asymmetric Excitable Media Based on the Belousov-Zhabotinsky Reaction

Сафонов Д.А.,<sup>1</sup> Проскуркин И.С.,<sup>1</sup> Мальфанов И.Л.,<sup>1</sup> Лаврова А.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ, [dasafonov@kantiana.ru](mailto:dasafonov@kantiana.ru)

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, г. Санкт-Петербург, РФ

При разработке химических нейроморфных автономных устройств [1] технически непростой задачей оказывается обеспечение однонаправленной передачи запаздывающих импульсных сигналов между активными элементами сети. В работе [2] было предложено и теоретически обосновано использование для этой цели специальных волноводов на основе реакционно-диффузионных сред. Опробовать эту идею на практике удалось благодаря разработанному недавно методу фотополимеризации полиакриламидных гелей с иммобилизованными катализаторами реакции Белоусова-Жаботинского (БЖ) [3].

Такой способ передачи сигнала в экспериментальных условиях может быть реализован при достаточно оптимальном выборе геометрии среды и состава реакционной среды, обеспечивающих устойчивое однонаправленное распространение автоволн в течение продолжительного времени. Для этого была разработана математическая модель [4], описывающая экспериментальный «химический диод» (рис.1), представляющий собой пару примыкающих друг к другу асимметричных участков волновода, полученных путем нанесения на стеклянную подложку тонкого слоя полимера. В качестве ключевых параметров модели, влияющих на способ передачи сигнала, были рассмотрены: возбудимость среды  $c_{20}$ , протяжённость клиновидного участка  $w$ , ширина его кончика  $b$  и зазор  $g$  между участками волновода.

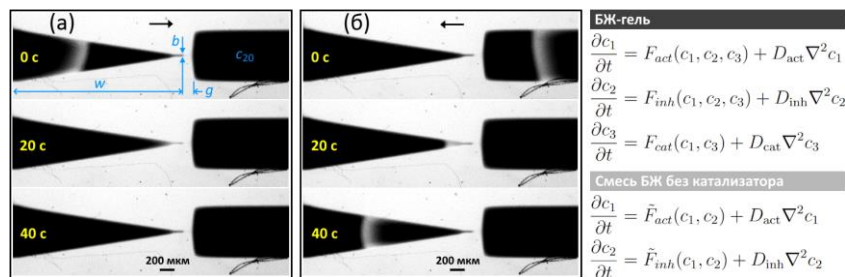


Рисунок 1. Фотографии распространения автоволны в возбудимой среде полиакриламидного геля, погруженного в раствор реакции БЖ без катализатора: (а) При движении волны слева направо распространения через зазор не происходит. (б) Преодолевая зазор при движении справа налево, волна успешно распространяется дальше

Было показано, что при оптимальном выборе тройки  $(c_{20}, w, b)$  возможно добиться однонаправленной проходимости в достаточно широком диапазоне зазоров. Особенно значимым оказалось влияние геометрического параметра: при возбудимости среды  $c_{20} = 2 \times 10^{-4}$  М увеличение длины клина с 500 до 2100 мкм приводит к почти двукратному (с 19 до 31 мкм) расширению рабочего диапазона зазоров, что существенно повышает технологическую воспроизводимость системы.

Также была обнаружена функциональная эквивалентность между геометрическими и физико-химическими параметрами системы. Так, в модели уменьшение ширины кончика клина  $b$  с 40 до 20 мкм оказывает такое же влияние на проходимость, как и снижение возбудимости среды  $c_{20}$  с  $2 \times 10^{-4}$  до  $1 \times 10^{-4}$  М, что впоследствии было подтверждено и экспериментальными наблюдениями.

Выявленные закономерности позволяют определить возможные подходы к оптимизации химического диода. Хорошая согласованность расчётных и экспериментальных данных говорит в пользу адекватности предложенной модели, что позволяет рассматривать её в качестве эффективного инструмента для анализа и более сложных реакционно-диффузионных систем на основе реакции БЖ.

1. Ваняг В.К. Сети спайковых осцилляторов и их применение для создания разумных автономных устройств // Успехи физических наук, 2022, т. 192 (5), с. 477-490, doi: 10.3367/UFNr.2021.05.038978.

2. Safonov D.A., Vanag V.K. Oscillatory microcells connected on a ring by chemical waves // Chaos, 2021, vol. 31 (6), doi: 10.1063/5.0046051.

3. Mallphanov I.L., Vanag V.K., Lavrova A.I. A new visible light-sensitive, oxygen-tolerant photoinitiator system for the synthesis of polyacrylamide gels by maskless photopolymerization // Mendeleev Communications, 2024, vol. 34 (2), pp. 235-237, doi: 10.1016/j.mencom.2024.02.025.

4. Safonov D., Proskurkin I., Mallphanov I., Lavrova A. A chemical diode for neuromorphic computing: design, simulation, and experimental validation of unidirectional signal transmission // The European Physical Journal Special Topics, 2025, doi: 10.1140/epjs/s11734-025-01506-1.

## РОЛЬ ВЕЗИКУЛ В ЭВОЛЮЦИИ

### The Role of Vesicles in Evolution

Смирнова О.Д., Калашникова И.В.

ФГБУ «НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, РФ, *smirnova0ksana@ya.ru*

Жизнь на Земле возникла около 3,8 млрд. лет назад [1-3] и, очевидно, был период, когда живое должно было абиогенно возникнуть, причем роль везикул в этом до сих пор признана не достаточно полно. На основании анализа широкого массива публикаций [1-12 и их ссылки], мы полагаем, что основным организующим механизмом возникновения жизни явилась гидрофобная конденсация множества абиогенных амфифилов в везикулы, – что, в свою очередь, привело к пристеночной горизонтальной конденсации нуклеиновых кислот, полидентатно хелатирующих совместно с липидами ионы  $\text{Ca}^{2+}$  [4,5]. Амфифилы, экстрагируемые из растворов углеродистых хондритов, в низких концентрациях способны образовывать везикулы [2], которые как случай замкнутых структур Ленгмюра способствуют пристеночной горизонтальной конденсации и других органических молекул при температурах выше их фазовой конденсации [6,7], – так формирование полиамфифильной фазовой границы спровоцировало сборку и иных органических соединений углеродистых хондритов в первичные биополимеры. Исследования по совместной инкубации амфифилов и коацерватных капель [8], а также математическое моделирование их взаимодействий [9] показывает спонтанную конденсацию коацерватов внутрь амфифильных везикул. Эксперименты и математическое моделирование поведения фосфолипидных везикул показывают, что сами по себе они способны ко всем ключевым свойствам эволюции: стремлению к поддержанию термодинамических параметров, устойчивости (именно полиамфифильный состав, из многообразия молекул с полярными и неполярными группами, придаёт везикулам наилучшую устойчивость [6]), адаптации к изменению внешних условий (при изменении соотношения амфифилов в структуре мембран), способность к самовоспроизведению (коалесценция и деление [10]). Самообразование везикул в условиях ранней Земли, скорее всего, в периодически пересыхающих лужичках конденсата гидротермальных источников (это объясняет устоявшиеся нормальные внутриклеточные концентрации ионов [11]), исходно сформировало первичные единицы живого, способствуя конденсации и иных органических молекул во внутренней структуре, что способствовало не какой попало взаимной, упорядоченной, организации биологически активных молекул (компарментализацию), оставляя возможность их горизонтального переноса между везикулами. Вероятно, часть везикул эволюционировала затем в вирусы, а часть – в LUCA [11]. Роль вирусных везикул в дальнейшей эволюции живого невозможно переоценить [11], как и роль внеклеточных везикул в согласованной активности межклеточных сообществ (за счет горизонтального переноса ДНК и РНК), в самоорганизации тканей и органов, а также в развитии и работе нервной системы, где везикулярный транспорт не просто моделирует жизненно важные метаболические функции участников контура возбуждения, но и сохраняется в эндосомах, играя важнейшую роль в памяти [12]. Мембраны везикул играют роль дирижёра в оркестре молекул, эмерджентно формирующих живую систему, движущим механизмом которого является гидрофобная конденсация.

1. Марков А.В. Рождение сложности. Эволюционная биология сегодня. Неоожиданные открытия и новые вопросы. АСТ, Corpus, 2014, 226 с.
2. Deamer D. Membranes and the Origin of Life: A Century of Conjecture // *Journal of Molecular Evolution*, 2016, vol. 83 (5-6), pp. 159-168, doi:10.1007/s00239-016-9770-8.
3. Trevors J.T. Early assembly of cellular life // *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2003, vol. 81 (3), pp. 201-217.
4. Antipina A.Yu., Gurtovenko A.A. Molecular-level insight into the interactions of DNA with phospholipid bilayers: barriers and triggers // *RSC Adv.*, 2016, vol. 6, pp. 36425-36432, doi:10.1039/C6RA05607E.
5. Gilbert J., Ermilova I., Fornasiera M. et al. On the interactions between RNA and titrateable lipid layers: Implications for RNA delivery with lipid nanoparticles // *Nanoscale*, 2024, vol. 16, pp. 777-794, doi: 10.1039/D3NR03308B.
6. Budin I., Prwyres N., Zhang N., Szostak J.W. Chain-length heterogeneity allows for the assembly of fatty acid vesicles in dilute solutions // *Biophys. J.*, 2014, vol. 107 (7), pp. 1582-1590, doi: 10.1016/j.bpj.2014.07.067.
7. Kalinina M.A. Self-Assembly Of Metastable Langmuir Monolayers On Planar Solid Surfaces // *Colloid Journal*, 2015, vol. 77, no. 5, pp. 537-555, doi:10.1134/S1061933X15050099.
8. Suzuki N., Itabashi Y. Possible Roles of Amphiphilic Molecules in the Origin of Biological Homochirality // *Symmetry*, 2019, vol. 11, p. 966, doi:10.3390/sym11080966.
9. Gao N., Mann S. Membranized Coacervate Microdroplets: from Versatile Protocell Models to Cytomimetic Materials // *Acc. Chem. Res.*, 2023, vol. 56 (3), pp. 297-307, doi: 10.1021/acs.accounts.2c00696.
10. Bozic B., Svetina S. Vesicle self-reproduction: The involvement of membrane hydraulic and solute permeabilities // *Eur. Phys. J. E*, 2007, vol. 24, pp. 79-90, doi: 10.1140/epje/i2007-10217-1.
11. Никитин М.В. Происхождение жизни. От туманности до клетки. Альпина нон-фикшн, 2016, 542 с.
12. Perin M.S., Fried V.A., Mignery G.A. et al. Phospholipid binding by a synaptic vesicle protein homologous to the regulatory region of protein kinase C // *Nature*, 1990, vol. 345 (6272), pp. 260-263.

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАШИНЫ Biological Molecular Machines

Твердислов В.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, *tverdislov@mail.ru*

Важнейшим биологическим признаком земных форм жизни являются клетки, тогда как их главным физическим признаком – молекулярные машины – основа формирования и функционирования всех живых систем. Это преобразующие энергию, вещество и информацию белки-ферменты, рецепторы, насосы, сократительные системы, нуклеиновые кислоты, рибосомы, мембраны и пр. «Полезная работа» таких машин – их биологическая функция. Молекулярная машина есть иерархическое устройство, циклически сопрягающее преобразование формы энергии, необходимое для совершения полезной работы, и череду преобразований или переключений симметрии в её регулярных структурных хиральных элементах, реализующих выделенные «механические» степени свободы и контролирующих движение системы по заданному направлению цикла. Симметричная основа фолдинга и иерархической организации молекулярных машин, а также цитоскелета как сообщества молекулярных машин – L/D-знакопеременный инвариант вложенных или последовательно связанных хиральных структур возрастающего масштаба и изменяющегося типа симметрии.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ БОРЬБЫ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

### The Use of Ultrasound to Fight Cancer

Фоменко Л.Е. Сухов Г.А.

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, РФ, *semenov.999999@yandex.ru*

Одно из заболеваний, которое до недавнего времени считалось летальным — рак. Для лечения применяется ряд методов, однако эти методы сложны и дороги.

Цель исследования: Основная цель исследования — создание безопасного метода разрушения вредных клеток.

Существуют следующие методы лечения рака на ранних стадиях:

Лучевая терапия;

Лучевая терапия с визуальным контролем;

Нейтронно-лучевая терапия;

Однако, все вышеперечисленные методы сложны технически и дороги, поэтому в данном исследовании предлагается разрушать опухолевые клетки путём их облучения ультразвуком в трёх частотных диапазонах:  $(27-29) \cdot 10^3$  Гц,  $(44-46) \cdot 10^3$  Гц,  $(88-92) \cdot 10^3$  Гц, при этом интенсивность варьировалась в диапазоне: 0,1-0,4 Вт/м<sup>2</sup>.

В исследовании проводилось численное моделирование воздействия ультразвука на область опухолевых клеток, численное моделирование проводилось в среде Matcad, при этом учитывалось поглощение ультразвука в тканях.

Результаты и их обсуждения. Таким образом, в данном докладе предложено для разрушения клеток и органелл использовать ультразвуковой резонанс на определенной частоте, применение которого в обозначенном выше диапазоне параметров приводило к гибели той же доли клеток, что и при других, более вредных и дорогих, методах терапии.

Выводы. Таким образом, правильно подобранная частота и интенсивность ультразвука позволяет использовать явление резонанса для разрушения клеток определённого размера, предложенный метод позволяет не использовать опасные и вредные лучевые методы.

## ФЕНОМЕНОЛОГИЯ ФИЗИКИ ЖИВЫХ СИСТЕМ И МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ТАНАТОЛОГИЯ О ПРИЧИНАХ СТАРЕНИЯ И ОСОБЕННОСТЯХ ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКИ РИСКА СМЕРТИ ОТ РАКА

Phenomenology of the Physics of Living Systems and Mathematical Thanatology on the Causes of Aging and the Features of Age-Related Dynamics of the Risk of Death from Cancer

Халявкин А. В.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, *antisenesc@mail.ru*

Старение организмов с повторными циклами размножения представляет собой загадку. Многие классики геронтологии недоумевали – почему, после удивительных превращений в процессе развития организма, он не может просто сохранить то, что уже сформировалось. Ведь и в клетках, и в многоклеточных организмах не заключено ничего такого, что препятствовало бы их превращению в неограниченно долго функционирующие нестареющие системы. Актуальность этой проблемы стала очевидной после того, как была показана обратимость многих признаков старения, считавшихся необратимыми (напр., [1]). Поэтому ставилась задача понять, почему стареют организмы, состоящие из потенциально нестареющих клеточных линий.

Феноменология физики живых систем рассматривает организм не как сложный набор подсистем, а как единое целое, реагирующее на вызовы среды определенным образом. Она, на основе известных закономерностей, помогает понять, как динамически устойчивая (нестареющая) система, состоящая из потенциально нестареющих клеточных линий, стареет при функционировании вне всегда ограниченной зоны устойчивости [2,3].

Известно, что при старении риск смерти (сила смертности) в ряде возрастов растет экспоненциально. Такая закономерность называется законом Гомперца:  $\ln M(t) = \ln M_0 + at$ , где  $M(t)$  – возрастная динамика риска смерти;  $M_0$  – предэкспоненциальный множитель;  $a$  – кинетический параметр, характеризующий темп старения. Закон Гомперца справедлив для популяций многих видов, особи которых испытывают старение. Являясь решением дифференциального уравнения, достаточно давно предложенного Гомперцем, эта закономерность по сию пору активно применяется в биogerонтологии и в биодемографии. Естественно, что в разных условиях параметры закона Гомперца ( $M_0$  и  $a$ ) оказывались разными. Причем между ними в 1960 г. была выявлена эмпирическая зависимость вида  $\ln M_0 = \ln M - aT$  (где  $M$  и  $T$  параметры этой зависимости), которую мы получили аналитически из дифференциального уравнения Гомперца, дополненного членом, учитывающим рост среднего риска смерти. Она была идентична картине старения потенциально нестареющих гидр, вне зоны их устойчивости [4,5].

Закономерности математической танатологии позволяют не только количественно описать особенности возрастной динамики риска смерти от рака, а именно экспоненциальный рост с уменьшающимся кинетическим параметром (напр., [6]), но и понять причину возникновения этого явления, загадочного для онкологов.

Формула, аппроксимирующая такую возрастную динамику, опубликованная ранее [6], была представлена в виде:  $\ln M_c(t) = \ln M_{c0} + a_c t + bt^2$ , где  $M_c(t)$  – возрастная динамика риска смерти от рака;  $M_{c0}$  – предэкспоненциальный множитель;  $a_c$  и  $b$  – параметры. Для данного случая нужно, чтобы подгоночный параметр  $b$  был отрицательным и показатель экспоненты падал с возрастом. Поскольку зависимость, аппроксимируемая этой формулой, должна была быть решением дифференциального уравнения Гомперца, без квадратичного члена в экспоненте, представлялось полезным выявить причину его появления. В данном случае закон Гомперца оказывается справедливым при апостериорном учете риска смерти только для субпопуляции умерших от рака. При стандартном пересчете на всю популяцию перед этим парциальным законом Гомперца появляется коэффициент, отражающий долю возрастного риска этой субпопуляции в общем риске. Он представляет собой частное от деления функции дожития искомой субпопуляции на функцию дожития всей популяции. Этот коэффициент постоянен только если кинетические параметры общего и парциального законов Гомперца равны ( $a = a_c$ ), что справедливо для многих причин смерти. Если же кинетический параметр оказывается больше у парциального закона Гомперца ( $a_c > a$ ), то легко показать, что коэффициент уменьшается с возрастом. Именно так и происходит в случае возрастного замедления роста риска смерти от рака при его расчете на всю популяцию.

Эти и подобные им результаты позволяют наметить ответы на многие вопросы, стоящие как перед фундаментальной геронтологией, так и перед онкологией.

1. Rando T.A., Chang H.Y. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock // *Cell*, 2012, vol. 148, no 1-2, doi: 10.1016/j.cell.2012.01.003.
2. Khalyavkin A.V., Yashin A.I. Inadequate intensity of various components of total environmental signals can lead to natural aging // *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2006, vol. 1067, no. 1, doi: 10.1196/annals.1354.007.
3. Khalyavkin A.V., Krut'ko V.N. How regularities of mortality statistics explain why we age despite having potentially ageless somatic stem cells // *Biogerontology*, 2018, vol. 19, no. 1, doi: 10.1007/s10522-017-9728-2.
4. Martinez D.E. Mortality patterns suggest lack of senescence in hydra // *Exp Gerontol.*, 1998, vol. 33, no 3, doi: 10.1016/s0531-5565(97)00113-7.
5. Yoshida K., Fujisawa T., Hwang J.S. et al. Degeneration after sexual differentiation in hydra and its relevance to the evolution of aging // *Gene*, 2006, vol. 385, no 1, doi: 10.1016/j.gene.2006.06.031.

6. Мамаев В.Б., Наджарян Т.Л. Кинетический анализ смертности. Подход к созданию количественной геронтологии. В кн. Популяционная геронтология. М.: ВИНТИ, 1987, с. 106-154.

## ДЕКОМПОЗИЦИЯ СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ КРИПТОФИТОВОЙ ВОДОРОСЛИ *RHODOMONAS SALINA*

### Decomposition of the Absorption Spectrum of Cryptophyte Algae *Rhodomonas Salina*

Чернышев Д.Н.<sup>1</sup>, Клочкова В.С.<sup>1</sup>, Новикова Т.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [chernishev@gmail.com](mailto:chernishev@gmail.com)

<sup>2</sup> ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Криптофитовые водоросли, представителем которых является *Rhodomonas salina*, обладают уникальным набором пигментов, включая хлорофиллы *a* и *c*, каротиноиды и фикобилипротеины (фикоэритрин в данном случае). Изучение их соотношений и изменений под воздействием различных лимитирующих факторов (интенсивность света, температура, солёность, питательные вещества) позволяют глубже понять механизмы фотосинтеза для оптимизации культивирования *R. salina* с целью получения целевых продуктов.

В настоящее время актуальна разработка быстрых и неразрушающих методов для определения концентрации пигментов микроводорослей. Особое значение имеет спектр поглощения культуры, поскольку он содержит полную информацию о пигментном составе клеток. Для определения концентрации каждого пигмента необходимо математически разделить общий спектр на отдельные спектры пигментов, учитывая, что оптическая плотность культуры является суммой оптических плотностей отдельных компонентов. Описание спектра пигмента с помощью одной или нескольких кривых нормального распределения (кривых Гаусса) показало свою эффективность в нескольких работах [1]. Целью работы является разработка математической модели спектра поглощения *Rhodomonas salina*, которая основана на литературных данных о спектрах поглощения отдельных пигментов.

Объектом исследования являлась криптофитовая водоросль *Rhodomonas salina* (Wislouch) Hill & Wetherbee IBSS-29 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН» (ФИЦ ИнБИОМ). Нативные спектры поглощения регистрировались на двухлучевом спектрофотометре Lambda 365 Double Beam UV-Visible с интегрирующей сферой (ЦКП «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБИОМ) в диапазоне от 400 до 750 нм с шагом 0,5 нм. Для определения истинного спектра поглощения использовали подход, предложенный в [2].

Согласно литературным данным [3], культура *Rhodomonas salina* содержит следующие пигменты  $\alpha$ -каротин, аллоксантин, хлорофилл *c2*, хлорофилл *a* и криптофитовый фикоэритрин (Cr-PE). Из работы [4] были оцифрованы спектры нативных форм пигментов в чистом виде. Проведено разделение приведенных в литературе спектров на отдельные кривые Гаусса. Полученные параметры кривых использованы на начальном этапе аппроксимации спектров поглощения культуры. Внося поправки (амплитуды, полуширины и сдвига максимума) получены финальные значения. Аппроксимация проводилась методом доверительных областей с заданными ограничениями и начальными параметрами. Коэффициент детерминации  $R^2$  между экспериментальными и реконструированными спектрами составлял от 0,98 до 0,99.

Благодаря разработанной модели станет возможным определение пигментного состава культуры *Rhodomonas salina* непосредственно в течение эксперимента без вмешательства в процессы роста.

1. Naqvi K.R., Merzlyak M.N., Melø T.B. Absorption and scattering of light by suspensions of cells and subcellular particles: an analysis in terms of Kramers-Kronig relations // Photochem Photobiol Sci, 2004, pp. 132-137, doi: 10.1039/b304781d

2. Küpper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra // Analytical chemistry, 2007, vol. 79, no. 20, pp. 7611-7627.

3. Клочкова В.С., Лелеков А.С., Геворгиз Р.Г. и др. Изменение спектра оптической плотности накопительной культуры *Arthrospira (Spirulina) platensis* // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2021, т. 6, № 4, с. 543-547.

4. Schomaker R.A., Richardson T.L., Dudycha J.L. Consequences of light spectra for pigment composition and gene expression in the cryptophyte *Rhodomonas salina* // Environ. Microbiol., 2023, pp. 3280-3297, doi: 10.1111/1462-2920.16523.

5. Barsanti L., Evangelista V., Frassanito A.M. et al. Absorption microspectroscopy, theory and applications in the case of the photosynthetic compartment // Micron, 2007, vol. 38, no. 3, pp. 197-213.

## МОДЕЛЬ СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ КУЛЬТУРЫ *PORPHYRIDIDIUM PURPUREUM* С ДОПОЛНИТЕЛЬНЫМ ПИКОМ В ОБЛАСТИ 700 НМ

### Model of the Absorption Spectrum of *Porphyridium Purpureum* Culture with an Additional Peak in the Region of 700 nm

Чернышев Д.Н., Клочкова В.С., Завьялова О.С.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [chernishev@gmail.com](mailto:chernishev@gmail.com)

Красные водоросли, и в особенности культивируемый вид *Porphyridium purpureum*, представляют собой уникальную группу фотосинтезирующих организмов, заслуживающих пристального внимания. Эти одноклеточные эукариоты, населяющие преимущественно морские экосистемы, обладают сложной и высокоэффективной системой сбора световой энергии. Их пигментный состав включает: хлорофилл *a*, характерный для большинства фотосинтетиков, а также фикобилины (фикоэритрин, фикоцианин и аллофикоцианин) и каротиноиды, определяющие их адаптацию к специфическим условиям освещения [1]. В отличие от хлорофилла, фикобилины не являются компонентами реакционных центров фотосистем. Они организованы в крупные супрамолекулярные структуры, известные как фикобилисомы (ФБС), которые играют ключевую роль в расширении спектра поглощаемого света, эффективно улавливая фотоны в диапазонах, где хлорофилл *a* проявляет слабое поглощение [2]. Таким образом, красные водоросли используют ФБС для более полного использования доступного светового ресурса, оптимизируя процесс фотосинтеза.

Фотосистема I (ФС1) занимает центральное место в преобразовании энергии света в химическую энергию. Реакционный центр ФС1 содержит специализированный пигмент, обозначаемый как P700. Этот сложный комплекс, состоящий из хлорофилла *a* и других пигментов, характеризуется пиком поглощения при длине волны около 700 нм в восстановленном состоянии [3].

Исследование окислительно-восстановительных свойств P700 имеет важное значение для оценки активности ФС1 и эффективности использования света в процессе фотосинтеза. Измерение скорости окисления и восстановления P700 позволяет получать ценную информацию о функциональном состоянии ФС1 и её роли в общем энергетическом балансе клетки. Более того, изучение P700 предоставляет возможность понять механизмы адаптации микроводорослей к меняющимся условиям окружающей среды, таким как интенсивность света, его спектральный состав и другие факторы стресса. Таким образом, исследование P700 является важным инструментом для понимания физиологии и экологии красных водорослей.

Из-за низкого содержания P700 в клетках для его анализа требуются высокочувствительные методы, которые, в свою очередь, очень время и ресурс затратные. В качестве альтернативы возможно использовать спектрофотометрические способы для оценки концентрации P700. Ранее нами разработана модель разделения спектра поглощения культуры *Porphyridium purpureum* [4]. В данной работе модель дополнена пиком в области 700 нм для оценки P700.

В качестве объекта исследования использовали культуру красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Vogt) Drew et Ross. Спектры записывались на спектрофотометре Shimadzu UV-2600i с интегрирующей сферой. Для определения истинного спектра поглощения использовали подход, предложенный в [5].

Модель была усовершенствована путём добавления пика для P700, корректировки параметров пиков отдельных пигментов и включения компонентов, учитывающей рассеяния. Важно отметить, что используются стандартные коэффициенты экстинкции для каждого пигмента. Разработанная модель позволяет оценить содержание P700, не используя сложных методов для разрушения клеток и вмешиваний в процессы роста культуры красной морской водоросли *Porphyridium purpureum*. В дальнейшем будет возможно исследовать динамику P700 или соотношение хлорофилл *a*/P700 при различных условиях культивирования.

1. Шкреблик У.Д., Дмитриев Н.П. Накопление основных пигментов в клетках водоросли *Porphyridium purpureum* в зависимости от условий культивирования // Инновационные технологии в промышленности и образовании: материалы I международной научной конференции (г. Пинск, Нукус, 14 декабря 2023 г.) Пинск: Изд-во ПолесГУ, 2023, с. 390-392.

2. Voerman S.E., Ruseckas A., Turnbull G.A. et al. Red algae acclimate to low light by modifying phycobilisome composition to maintain efficient light harvesting // *BMC Biol.*, 2022, vol. 20, doi: 10.1186/s12915-022-01480-3.

3. Ильина М.Д., Борисов А.Ю. Фотоокисление P700 в препаратах фотосистемы I с разным содержанием антенного хлорофилла *a* // *Биохимия*, 1982, т. 47, вып. 12, с. 1954-1962.

4. Чернышев Д.Н., Клочкова В.С., Лелеков А.С. Модель декомпозиции нативного спектра поглощения культуры *Porphyridium purpureum* // Вестник Самарского университета. Естественная серия, 2024, т. 30, № 1, с. 122-131.

5. Клочкова В.С., Лелеков А.С., Геворгиз Р.Г. и др. Изменение спектра оптической плотности накопительной культуры *Arthrospira (Spirulina) platensis* // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2021, т. 6, № 4, с. 543-547.

# ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПИГМЕНТОВ, РАЗДЕЛЁННЫХ МЕТОДОМ ВЭЖХ-ФЛД

## The Use of Mathematical Modeling for Additional Identification of Pigments Separated by the HPLC-FLD Method

Чернышев Д.Н., Осокин А.Р., Веляев Ю.О., Дегтяр И.В., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [chernishev@gmail.com](mailto:chernishev@gmail.com)

Метод математического моделирования спектров поглощения пигментов детально описан в статье [1]. Авторы приводят математические модели спектров поглощения фотосинтетических пигментов в чистом виде, в растворе ацетона. Используя модели пигментов можно проводить разделение на отдельные спектры поглощения смеси пигментов. А также работать с чистыми пигментами, для установления качественного и количественного состава. Спектр поглощения можно описать как сумму кривых нормального распределения с фиксированными величинами (полуширина отдельной кривой, соотношения амплитуд, и позиция максимума).

Задача по идентификации УФ-спектров каротиноидов методами математического моделирования возникла, поскольку при хроматографическом разделении экстракта, содержащего различные пигменты водоросли *D. salina* методом ВЭЖХ-ФЛД один из выделенных каротиноидов идентифицировать не удалось. Сама водоросль (*D. salina*, штамм IBSS-1) культивировалась в климатической камере для роста растений ВРС МИР 500 с регулируемой температурой при температуре  $20 \pm 2$  °C с освещением, обеспечиваемым в течение 12 часов светового цикла, 12 часов темнового цикла (12/12 LD) с помощью белых светодиодных ламп (LED) с интенсивностью света  $\sim 90$   $\mu\text{моль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . Рост клеток контролировался путем спектрофотометрического измерения оптической плотности культуры на волны 750 нм. Экстракцию каротиноидов проводили путём центрифугирования 15 мл раствора биомассы водоросли на 10000 об/мин в течении 5 мин на лабораторной центрифуге-встряхивателе ELMi CM-50M. Полученный осадок отделяли от жидкой фазы и взвешивали. Затем равным по объёму с полученным осадком экстрагентом, приготовленным в соотношении метанол: метилтретбутиловый эфир (далее – МТБЭ) - 3:7 (согласно [2]), проводили экстракцию с помощью лабораторного шейкера ПЭ-6300 в течении 5 минут. Далее полученную взвесь пропускали через мембранный шприцевый фильтр с диаметром пор 0,2 мкм. Анализ на каротиноиды проводился с помощью сверхбыстрого tandemного жидкостного хроматомасс-спектрометра Shimadzu LCMS-8060 оснащённого детектором со встроенной фотодиодной матрицей SPD-M30A, а также спектрофлуорометрический детектором RF-20Axs.

Каротиноиды идентифицировали на следующей длине волны: лютеин и  $\alpha$ -каротин – 446 нм,  $\beta$ -каротин – 452 нм, 9-цис- $\beta$ -каротин – 448 нм, неизвестный каротиноид – 442 нм. Идентификацию каротиноидов проводили по их УФ-спектрам, согласно литературным данным [3], однако неизвестный каротиноид пришлось идентифицировать с помощью методов математического моделирования, описанных ранее. Также для проверки работоспособности модели сравнивались полученные в экстракте *D. salina* УФ-спектры зеаксантина со спектром стандартного аналитического образца данного вещества и его математической модели. В результате аппроксимирования спектра стандартного зеаксантина показано что данная кривая лучше всего описывается моделью transZeaxanthin (транс-зеаксатин) (R-square: 0.9998 м сдвиг – 3 нм). Качественная характеристика пигмента - максимальный R-square и малый сдвиг максимума пигментов ( $\pm 5$  нм). Замечено, что форма спектров и сдвиг максимума практически не меняются в зависимости от растворителя у моделей (ацетон), и предоставленных спектров, полученных в смеси метанола и МТБЭ. Аппроксимация неустановленного пигмента проведена имеющимися в базе моделями каротиноидов. Выявлено, что лучше всего спектр описывается уравнением для Antheraxanthin (анероксатин) (R-square: 0.9994 сдвиг максимума – 1,03 нм).

Таким образом, в работе показано, что методы математического моделирования могут применяться в хроматографическом и других видах анализа при анализе УФ-спектров каротиноидов для дополнительной верификации или первичной идентификации веществ, при отсутствии аналитических стандартов, при этом конечный результат обладает достаточно высокой сходимостью со спектрами модельных веществ.

Работа выполнена в рамках в рамках государственного задания Севастопольского государственного университета «Фотобиофизический мониторинг окружающей среды на основе спектрально-флуоресцентных свойств, структурно-организованных молекулярных (включая наночастицы) и супрамолекулярных биологически важных систем (FEFM-2023-0005).

1. Küpper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra // Analytical chemistry, 2007, vol. 79, no. 20, pp. 7611-7627.

2. Xu Y., Ibrahim I.M., Wosu C.I. et al. Potential of New Isolates of *Dunaliella Salina* for Natural  $\beta$ -Carotene Production // Biology, 2018, vol. 7, p. 14, doi: 10.3390/biology7010014.

3. Rodriguez-Amaya D.B., Kimura M. Harvestplus Handbook for Carotenoid Analysis. HarvestPlus, 2004, 63 p.



# КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

## Conductometric Study of Biologically Active Compounds Association

Шупова Е.В., Замрий А.С.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, *liza.shupova@yandex.ru*

Одним из наиболее широко используемых методов терапии в настоящее время является комбинированное использование препаратов, в результате чего происходит снижение негативных последствий от приёма активного вещества или изменение его физико-химических свойств (например, растворимости). В связи с этим крайне важно выяснение природы механизмов совместного действия препаратов.

Посредством кондуктометра Profiline Cond 3110 WTW были получены значения удельной электропроводности с помощью кондуктометрического титрования для одно- и двухкомпонентных водных растворов заряженных лигандов [1]. В рамках кондуктометрического титрования была получена удельная электропроводность при различных концентрациях для водных растворов лигандов (флавиномононуклеотид, метиленовый голубой, хлорофиллин, профлавин, бромистый этидий) и их пар (PF-MB, EB-PF, PF-CHL, FMN-PF, EB-MB, CHL-MB, FMN-MB, EB-CHL, FMN-EB, CHL-FMN). Наблюдалось значительное изменение проводимости исследуемых растворов лигандов. Были сняты значения удельной электропроводности на различных концентрациях исследуемых лигандов водных растворов. Полученные зависимости позволяют сделать вывод о наличии процессов агрегации и кулоновского взаимодействия лигандов между собой [2].

Проводился теоретический анализ явления проводимости лигандов и расчёт параметров комплексообразования (в первую очередь, константа ассоциации  $K$ ) в растворах исследованных лигандов методом кондуктометрии на языке программирования Python. Результаты приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Параметры самоассоциации

Системы	$K, \text{мМ}^{-1}$	$a_m$	$b_m$	$a_d$	$b_d$	$R^2$
PF	1,15	243,98	677,49	458,49	16,78	0,998
MB	16,11	143,85	$5,16 \cdot 10^3$	18,83	48,99	0,999
EB	19,39	$3,76 \cdot 10^3$	$8,87 \cdot 10^5$	13,57	41,65	0,997
CHL	27,71	$1,73 \cdot 10^3$	$3,95 \cdot 10^5$	9,09	35,60	0,995
FMN	2,53	197,58	237,38	$1,33 \cdot 10^{-3}$	525,50	0,992

Таблица 2. Параметры гетероассоциации

Системы	$K_h, \text{мМ}^{-1}$	$a_{mx}$	$b_{mx}$	$a_{dx}$	$b_{dx}$	$a_{my}$	$b_{my}$	$a_{dy}$	$b_{dy}$	$R^2$
PF-MB	4,02	19,38	67,43	175,72	147,29	207,98	501,06	167,47	1264,77	0,902
EB-PF	5,61	0,03	75,73	641,25	170,40	365,92	756,65	317,47	603,12	0,971
PF-CHL	11,19	14,20	3033,4	7544,8	7771,4	1473,4	3823,3	1260	1720,7	0,964
FMN-PF	1,84	0,02	18,57	59,85	25,28	34,55	10,44	33,92	8,82	0,997
EB-MB	17,09	2849	1439,2	4061,9	2206,9	2946,2	312,46	2923,3	355,68	0,995
CHL-MB	20,43	3191,7	3777	7910,2	2729,1	4178,5	60,48	4174,9	44,39	0,995
FMN-MB	4,94	2864,5	872,71	439,44	185,14	244,93	11,24	244,25	11,97	0,993
EB-CHL	23,41	130,96	3330,7	6852,6	4940	6581,4	17525,9	5529,4	9945,7	0,956
FMN-EB	9,83	46987,5	11883,8	1248,3	3762,3	1130,3	1812,2	986,77	4547,3	0,918
CHL-FMN	11,89	5,81	219,66	2415,7	1322,3	1586,5	3112,6	1420,31	1452,7	0,988

В качестве математических моделей для расчетов использовали модель комплексообразования «1:1» и закон Кольрауша для электропроводности растворов электролитов. Видно, что значения констант комплексообразования для гетероассоциации попадают в диапазон между значениями соответствующих констант самоассоциации, что указывает на корректность использования выбранных моделей. Об этом же свидетельствует и высокий коэффициент детерминации.

1. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия, М: Высшая школа, 2000, 479 с.
2. Atkins P.W., de Paula J. Physical Chemistry. Oxford University Press, 2006.

**САМООРГАНИЗАЦИЯ В СИСТЕМЕ СВЯЗАННЫХ ПАРВАЛЬБУМИН-ПОЗИТИВНЫХ  
ИНТЕРНЕЙРОНОВ МИНИКОЛОНКИ НЕОКОРТЕКСА С АУТАПСАМИ**  
**Self-Organization in System of Coupled PV-Interneurons with Autapses in Cortical Minicolumn**

Ясюк В.О.<sup>1</sup>, Гостева И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российский федеральный ядерный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт  
экспериментальной физики, г. Саров, РФ, [voyasyuk@vniief.ru](mailto:voyasyuk@vniief.ru)

<sup>2</sup> Саровский физико-технический институт – филиал Национального исследовательского ядерного университета  
«МИФИ», г. Саров, РФ

В работе исследовались процессы самоорганизации в модели системы четырех парвальбумин-позитивных (далее – PV) интернейронов неокортекса, описываемых уравнениями Фитцхью-Нагумо, каждый из которых связан с остальными клетками тормозными электрическими синапсами по принципу «все-со-всеми». Воздействие тормозных синапсов упрощенно моделировалось с помощью импульсных связей с задержкой. Особенностью данных интернейронов является то, что PV-клетки предпочтительно и сравнительно интенсивно соединяются именно друг с другом [1,2]. Также известно, что у PV-нейронов имеется механизм самоторможения посредством ГАМКергических аутапсов, которые оказывают гораздо более сильное воздействие, чем то, что вызывается другими PV-клетками, представляющий собой один из способов синхронизации активации PV-нейронов во время когнитивно значимой сетевой активности коры [1]. Таким образом в совокупности эти две особенности создают условия для образования отдельных сетевых структур PV-интернейронов, которые могут оказывать существенное влияние на колебательную динамику сетевых структур неокортекса, таких как миниколонки, посредством которых он возможно организует свои нейроны и проводящие пути [3]. Однако механизмы их самоорганизации остаются до конца не изученными.

Было установлено, что влияние аутапсов на колебательную динамику PV-нейронов приводит к переключению их регулярных режимов колебаний из одного в другой без дополнительного изменения других параметров системы. Значения параметров аутапсов при этом были одинаковы у всех PV-нейронов системы.

Также было показано, что изменение параметров  $\tau_{\text{аут}}$  и  $C_{\text{аут}}$  при наличии только одного аутапса и при постоянных параметрах тормозных связей PV-нейронов  $\tau$  и  $C$ , (где  $\tau$  - время задержки действия тормозной связи, а  $C$  – сила ее воздействия), позволяет переключать режимы колебаний PV-нейронов системы без аутапса из одного в другой. Для некоторых значений  $\tau$ , были определены соотношения  $\tau/\tau_{\text{аут}}$ , при которых регулярная колебательная динамика переключалась из одного периодического состояния в другое или не наблюдалась вовсе.

Были выдвинуты предположения о важности аутапсов в неокортексе не только для стимулирования синхронизации [4], но и для поддержания сложной периодической активности. Для неокортекса это может быть полезным при генерации спонтанной активности и управлении разнообразными высшими нервными функциями. Нарушение самоорганизации в таких системах может быть одной из причин шизофрении, эпилепсии, аутизма, болезни Паркинсона, а также синдрома Туретта [5,6].

1. Deleuze C., Bhumbra G.S., Pazienti A. et al. Strong preference for autaptic self-connectivity of neocortical PV interneurons facilitates their tuning to  $\gamma$ -oscillations // *PLoS Biol.*, 2019, vol. 17, no. 9, doi: 10.1371/journal.pbio.3000419.

2. Pfeffer C.K., Xue M., He M. et al. Inhibition of inhibition in visual cortex: the logic of connections between molecularly distinct interneurons // *Nat. Neurosci.*, 2013, vol. 16, no. 8, doi: 10.1038/nn.3446.

3. Buxhoeveden D.P., Casanova M.F. The minicolumn hypothesis in neuroscience // *Brain*, 2002, vol. 125, no. 5, doi: 10.1093/brain/awf110.

4. Fan H., Wang Y., Wang H. et al. Autapses promote synchronization in neuronal networks // *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, no. 580, doi: 10.1038/s41598-017-19028-9.

5. Houser C. GABA neurons in seizure disorders: a review of immunocytochemical studies // *Neurochem. Rev.*, 1991, vol. 16, doi: 10.1007/BF00966093.

6. Markram H., Toledo-Rodriguez M., Wang Y. et al. Interneurons of the neocortical inhibitory system // *Nat. Rev. Neurosci.*, 2004, vol. 5, doi: 10.1038/nrn1519.

## СЕКЦИЯ 2. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА И БИОИНФОРМАТИКА

### ПРОСТРАНСТВЕННОЕ И ЭЛЕКТРОННОЕ СТРОЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ТЕТРАПЕПТИДА WRWR

#### Spatial and Electronic Structure of Antimicrobial Tetrapeptide WRWR

Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан  
gulshen@mail.ru

Как известно, антимикробные пептиды синтезируются в организме иммунной системой в ответ на заражение чужеродными бактериями, вирусами или грибами. Эти пептиды считаются перспективными антибиотиками, благодаря широкому спектру антимикробных свойств и способности убивать бактерии с лекарственной устойчивостью. Однако большие размеры таких пептидов не способствовали их фармацевтической разработке. Поэтому было проведено множество исследований для выявления эффективных коротких антимикробных пептидов. Так в работе [1] была выявлена антимикробная активность в коротких пептидах, состоящих из природных аминокислот, таких как триптофан и аргинин (W и R). Были исследованы взаимодействия тетрапептида WRWR-NH<sub>2</sub> с мембранами эритроцитов и мембраной грамположительной бактериальной клетки [2]. Как показали результаты исследования мономеры тетрапептида, взаимодействуя с мембранами, полностью покрывают их поверхность. Для исследования механизма взаимодействия данного тетрапептида с поверхностью мембран необходимо знание конформационного поведения пептидной молекулы, а также параметров электронной структуры ее стабильных конформационных состояний. Конформационные изменения молекулы приводят к перемещению одних атомных групп относительно других и это меняет электронное распределение и геометрические параметры, в результате чего меняется характер взаимодействия и связывающие свойства молекулы. Электронное строение молекулы непосредственно определяет ее реакционные способности. Для определения механизма взаимодействия тетрапептида WRWR с мембранами в настоящей работе методами молекулярного моделирования были исследованы конформационные особенности и электронные характеристики стабильных конформационных состояний молекулы тетрапептида WRWR. Расчеты были проведены в два этапа: 1) методом молекулярной механики определены геометрические и энергетические параметры стабильных конформационных состояний тетрапептида, 2) полуэмпирическим методом квантовой химии AM1 рассчитаны электронные характеристики рассчитанных низкоэнергетических конформаций молекулы. Исследование показало, что конформационное поведение тетрапептида может быть описано набором низкоэнергетических конформаций с полусвернутой формой пептидной цепи. На рисунке приведены молекулярные модели трех наиболее низкоэнергетических конформаций тетрапептида.

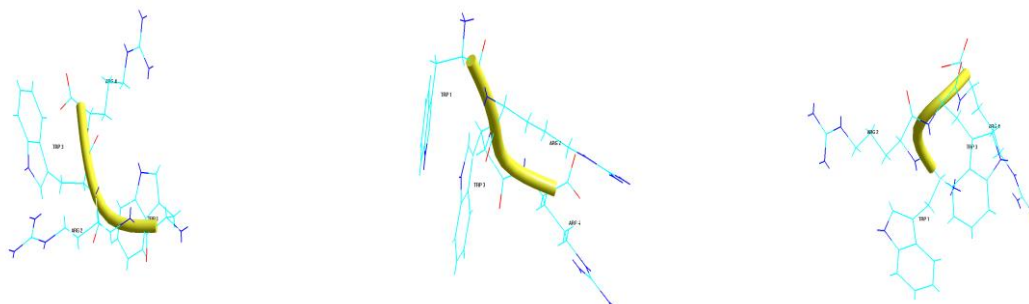


Рисунок 1. Молекулярные модели трех наиболее низкоэнергетических конформаций тетрапептида WRWR. Желтой линией показан ход пептидной цепи

Квантовохимический расчет показал распределение атомного парциального заряда в стабильных конформациях молекулы тетрапептида WRWR, что позволило прогнозировать взаимосвязь ее конформационных возможностей с реакционной способностью. Были также получены и сопоставлены распределение электронной плотности и эквипотенциальные поверхности в наиболее стабильных конформационных состояниях антимикробного тетрапептида WRWR.

1. Murugan R.N., Jacob B., Kim E.-H. et al. Non hemolytic short peptidomimetics as a new class of potent and broad-spectrum antimicrobial agents // Bioorg. Med. Chem. Lett., 2013, vol. 23, pp. 4633-4636, doi: 10.1016/j.bmcl.2013.06.016.

2. Lei Liu, Liling Zhao, Lixia Liu et al. Influence of Different Aromatic Hydrophobic Residues on the Antimicrobial Activity and Membrane Selectivity of BRBR-NH2 // Tetrapeptide, 2020, vol. 36 (50), pp. 15331-15342, doi: 10.1021/acs.LANGMUIR.0c02777.

### ТРЕХМЕРНАЯ СТРУКТУРА СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕНТАПЕПТИДА LKEKK The Three-Dimensional Structure of the Synthetic Pentapeptide LKEKK

Агаева Л.Н., Исмаилова Л.И., Ахмедов Н.А.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан  
leylanamig@mail.ru

Синтезирован пептид LKEKK. Была показана его способность с высоким сродством связываться с Т-лимфоцитами донорской крови человека и мембранами, выделенными из эпителиальных клеток тонкого кишечника крысы. Обработка клеток и мембран протеазами не влияла на связывание, что указывает на небелковую природу рецептора или, по крайней мере, той его части, которая непосредственно участвует в связывании. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на лимфоцитах и эпителиальных клетках кишечника имеется небелковый рецептор. Было высказано предположение, что этим рецептором может быть рецептор холерного токсина – ганглиозид GM1. Пептид LKEKK обладает выраженной противовоспалительной активностью *in vitro* и *in vivo*, имеет простую структуру, не токсичен, не иммуногенен – все перечисленное делает этот пентапептид LKEKK пригодным для разработки на его основе противовоспалительного препарата [1].

Трехмерная структура синтетического пептида Leu-Lys-Glu-Lys-Lys исследована методом теоретического анализа. Потенциальная функция системы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Невалентные взаимодействия были оценены по потенциалу Леннарда-Джонса. Электростатические взаимодействия рассчитывались в монопольном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе.

Трехмерная структура молекулы Leu-Lys-Glu-Lys-Lys была исследована на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков метиламида N-ацетил-L-лейцина, метиламида N-ацетил-L-лизина, метиламида N-ацетил-L-глутаминовой кислоты. Как видно из аминокислотной последовательности в молекулу входят многоатомные, положительно и отрицательно заряженные аминокислотные остатки. Поэтому были рассчитаны все многочисленные возможные конформации. Результаты расчета молекулы Leu-Lys-Glu-Lys-Lys показали, что происходит резкая энергетическая дифференциация между шейпами, формами основной цепи и конформациями. В большой энергетический интервал (0–10) ккал/моль попадают конформации двенадцати шейпов. Конформации шейпа  $f f f e$  оказались стерически невозможными, а конформации шейпов  $f e f f$ ,  $e e f e$ ,  $e f f e$  являются высокоэнергетическими. Поэтому они не попали в энергетический интервал (0–10) ккал/моль. В оставшихся конформациях энергия невалентных взаимодействий изменяется интервале (-28,3 – -17,8) ккал/моль, электростатических взаимодействий (8,3–12,9) ккал/моль, торсионных взаимодействий (1,8–7,9) ккал/моль. В энергетический интервал (0–6) ккал/моль попадают конформации четырех форм основной цепи  $B B B B$ ,  $R B B B$ ,  $R R B R$ ,  $R B R B$ .

Таким образом, пространственную структуру пентапептидной молекулы Leu-Lys-Glu-Lys-Lys можно представить двенадцатью структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах. Теоретический конформационный анализ пентапептидной молекулы Leu-Lys-Glu-Lys-Lys привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

1. Наволоцкая Е.В., Зинченко Д.В., Мурашев А.Н. Противовоспалительное действие синтетического пептида LKEKK // Биоорг. химия, 2023, т. 49, № 1, с. 41-47.

# КАЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГИДРОФОБНОГО ЭФФЕКТА В РЕАКЦИЯХ САМОАССОЦИИ АРОМАТИЧЕСКИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

## Calorimetric Study of the Role of the Hydrophobic Effect in the Reactions of Self-Association of Aromatic Biologically Active Compounds

Бучельников А.С.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [asbuchelnikov@sevsu.ru](mailto:asbuchelnikov@sevsu.ru)

Ароматические соединения играют важную роль в различных областях: от биологии (молекулярное узнавание, агрегация белков) до материаловедения (создание жидких кристаллов, органическая электроника). Одной из их ключевых особенностей является способность к самоассоциации, движущей силой которой, как правило, считается  $\pi$ - $\pi$ -стекинг, обусловленный, в первую очередь, энтальпийными (ван-дер-ваальсовыми) вкладами в энергию образования комплекса (аффинность). Известно, однако, что другой, не менее мощный молекулярный механизм, называемый гидрофобным эффектом, часто также вносит существенный вклад в аффинность (в первую очередь, белков).

Существует соотношение, связывающее теплоемкость при постоянном давлении  $\Delta C_p$  с изменением доступной для растворителя площади поверхности неполярных ( $\Delta A_{np}$ ) и полярных ( $\Delta A_p$ ) частей молекулы [1]:

$$\Delta C_p = \gamma_{np} \Delta A_{np} - \gamma_p \Delta A_p, \quad (1)$$

где  $\gamma_{np}$  и  $\gamma_p$  – микроскопические коэффициенты поверхностного натяжения неполярной и полярной частей молекулы. К неполярным взаимодействиям, описываемым первым слагаемым в правой части уравнения (1) относятся как ван-дер-ваальсовы, так и гидрофобные взаимодействия. Таким образом, с помощью уравнения (1) можно оценить, вклад каких взаимодействий, неполярных или полярных, в изменение теплоемкости  $\Delta C_p$  при самоассоциации является решающим.

Целью работы явилось определение роли гидрофобного эффекта в процессах самоассоциации низкомолекулярных ароматических биологически активных соединений, а главной задачей – определение значений величин  $\gamma_{np}$  и  $\gamma_p$ . Применение изотермической титрационной калориметрии является в этом случае наиболее целесообразным, поскольку данный метод позволяет непосредственно получать термодинамический профиль реакции самоассоциации.

Для работы были использованы ароматические соединения акридинового (профлавин, акридиновый оранжевый) и фенотиазинового (тионин, метиленовый синий) рядов в водных растворах. Использовался калориметр изотермического титрования MicroCal PEAQ-ITC. Эксперименты титрованием проводились в диапазоне температур от 5 до 60 °C с шагом в 5 °C в водно-солевом растворе (0,01 моль/л NaCl). Величины  $\Delta A_{np}$  и  $\Delta A_p$  были рассчитаны с помощью программного пакета HyperChem версии 8.0, как разность между площадями поверхности молекулярного димера и удвоенной площадью поверхности мономера.

Результатом эксперимента стали четыре (по числу соединений) набора из 12 термограмм. Во всех случаях реакция самоассоциации сопровождалась выделением энергии. Анализ термограмм для каждого соединения проводился с помощью димерной модели самоассоциации, в результате чего для каждой температуры было получено изменение энтальпии  $\Delta H$  и значение константы самоассоциации  $K$ . Для всех исследуемых соединений была обнаружена линейная температурная зависимость изменения энтальпии  $\Delta H$ , что указывает на независимость изменения теплоемкости  $\Delta C_p$  от температуры. Отрицательные значения  $\Delta C_p$  указывают на доминирующий вклад гидрофобного эффекта в величину теплоемкости, а также на то, что выполняется строгое неравенство  $\gamma_{np} > \gamma_p$ .

Полученные таким образом экспериментальные значения  $\Delta C_p$ , а также рассчитанные значения  $\Delta A_{np}$  и  $\Delta A_p$  для все исследуемых соединений позволили оценить коэффициенты  $\gamma_{np}$  и  $\gamma_p$  в уравнении (1), которые составили 0,46 и 0,15 кал/(моль·К·Å<sup>2</sup>) соответственно. Эти значения, на наш взгляд, неплохо согласуются с литературными данными: в работе [2] была получена пара значений 0,32 и 0,14 кал/(моль·К·Å<sup>2</sup>); в работе [3] – пара значений 0,45 и 0,14 кал/(моль·К·Å<sup>2</sup>).

Таким образом, выводы по работе могут быть сформулированы в виде следующих утверждений:

- 1) продемонстрирована эффективность метода изотермической титрационной калориметрии для исследования процессов самоассоциации ароматических биологически активных соединений в растворе;
- 2) показано, что процесс самоассоциации является как энтальпийно-, так и энтропийно-управляемым, что, в целом, согласуется с устоявшимися представлениями в литературе; при этом вклад неполярных взаимодействий в теплоемкость  $\Delta C_p$  велик по сравнению с вкладом полярных взаимодействий, что позволяет предположить доминирующую роль гидрофобного эффекта по сравнению с общим энтальпийным вкладом;

- 3) вычисление изменения теплоемкости  $\Delta C_p$  в реакции самоассоциации может быть осуществлено с помощью оценки изменения площадей неполярной и полярной частей комплекса в результате реакции.

Полученные данные имеют фундаментальное значение для понимания природы межмолекулярных взаимодействий и могут быть использованы для предсказания свойств сложных самоорганизующихся ароматических систем в химии, биологии и науке о материалах.

1. Evstigneev M.P., Lantushenko A.O. The fundamental origin of the polar contribution to heat capacity changes in hydration in an aqueous solution // J. Phys. Org. Chem., 2025, vol. 38, no. 7, art. no. e70021, doi: 10.1002/poc.70021.

2. Spolar R.S., Livingstone J.R., Record M.T., Jr. Use of liquid hydrocarbon and amide transfer data to estimate contributions to thermodynamic functions of protein folding from the removal of nonpolar and polar surface from water // Biochemistry, 1992, vol. 31, no. 16, pp. 3947-3955, doi: 10.1021/bi00131a009.

3. Murphy K.P., Freire E. Thermodynamics of structural stability and cooperative folding behavior in proteins // Adv. Protein Chem., 1992, vol. 43, pp. 313-361, doi: 10.1016/S0065-3233(08)60556-2.

## РАЗРАБОТКА НОВЫХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДИК ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИГАНДОВ КОЛХИЦИНОВОГО САЙТА ТУБУЛИНА

### Development of New Fluorescence-Based Techniques for Screening Colchicine-site Tubulin Ligands

Василевская В.Д.<sup>1</sup>, Лифшиц И.А.<sup>1</sup>, Хотлубей Е.С.<sup>1</sup>, Ратманова Н.К.<sup>2</sup>, Андреев И.А.<sup>2</sup>, Трушков И.В.<sup>2</sup>,  
Иванова О.А.<sup>1</sup>, Гудимчук Н.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, [viollavarvara@ya.ru](mailto:viollavarvara@ya.ru)

<sup>2</sup> Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН

Тубулин – это гетеродимерный белок, который при полимеризации образует важные полимеры клетки – микротрубочки. Микротрубочки необходимы для нормального функционирования и деления клетки и обладают особенностью, которая заключается в их динамической нестабильности – стохастической быстрой смене фаз полимеризации и деполимеризации. Динамическая нестабильность микротрубочек играет ключевую роль в процессе митоза и по этой причине тубулин давно является мишенью для химиотерапии рака [1]. Существует большое количество ингибиторов тубулина, однако, резистентность к химиотерапии и ее неспецифичность делают актуальным поиск новых препаратов химиотерапии.

Кумарин-30 – широкодоступный флуоресцентный зонд, который также является лигандом, специфически связывающимся с колхициновым сайтом тубулина [2]. Этот зонд может успешно применяться в качестве флуоресцентной метки в методах микромасштабного термофореза (MST) и анизотропии флуоресценции [2]. Оба метода основаны на конкурентном вытеснении кумарина-30 исследуемым лигандом. Так, если исследуемое вещество взаимодействует с колхициновым сайтом тубулина, оно может конкурентно вытеснить кумарин-30, что приводит к изменению сигнала по сравнению с состоянием, когда зонд связан с тубулином. Тем не менее, вышеперечисленные методы требуют дополнительного специального оборудования, что ограничивает их применение. В данной работе представлен новый метод, заключающийся в анализе спектрального сдвига флуоресценции с использованием кумарина-30 в качестве флуоресцентного зонда. Эффективность и точность этого нового метода сравнивается с двумя уже известными: измерением интенсивности флуоресценции зонда и анизотропии флуоресценции зонда.

Сравнение всех трех методов происходило на панели из эталонных 21 соединений с известной активностью по отношению к тубулину. Были оценены чувствительность, специфичность и точность каждого из трех методов. После этого тремя методами был также исследован ряд новых синтетических соединений – потенциальных ингибиторов тубулина. У тех соединений, которые по результатам исследований дали значимый результат, были дополнительно оценены способности ингибировать динамическое поведение микротрубочек. Для этого была использована микроскопия дифференциального интерференционного контраста (ДИК-микроскопия), что позволило наблюдать динамику микротрубочек *in vitro*. Потенциальные ингибиторы колхицинового сайта тубулина, выделенные на предыдущем этапе работы, продемонстрировали статистически значимое снижение скорости роста микротрубочек по сравнению с контролем.

Совокупно, разработанные флуоресцентные подходы предоставляют широкий арсенал возможностей для поиска новых ингибиторов полимеризации тубулина в режиме высокопроизводительного скрининга.

Работа выполнена при поддержке Программы развития МГУ, проект № 24-Ш06-08, с использованием оборудования «мультиформатный ридер CLARIOstar Plus», приобретённого в рамках программы «Развитие инфраструктуры для научных исследований и подготовки кадров», входящей в национальную программу «Наука и Университеты».

1. Mitchison T., Kirschner M. Dynamic instability of microtubule growth // Nature, 1984, vol. 312, pp. 237-242.

2. Anisimov M.N., Boichenko M.A., Sivachev A.A. et al. A coumarin-30-based method for identification of tubulin ligands with diverse binding sites // ChemRxiv., 2025.

**МОДЕЛИРОВАНИЕ РОЛИ НЕЙРОМОДУЛЯТОРОВ В РАБОТЕ  
НЕЙРОГЛИОВАСКУЛЯРНОЙ ЕДИНИЦЫ**  
**Modeling the role of Neuromodulators in the Functioning of the Neurogliovascular Unit**

**Верисокин А.Ю., Вервейко Д.В., Иванова П.Р.**

Курский государственный университет, г. Курск, РФ, [ffalconn@mail.ru](mailto:ffalconn@mail.ru)

Последние экспериментальные исследования позволяют утверждать, что целостное функционирование нервной ткани головного мозга является результатом широкого спектра процессов, протекающих во всех составляющих нейроглиоваскулярной единицы (НГВЕ) нервной ткани головного мозга, а именно непосредственно в нейронах, клетках глии (в первую очередь – астроцитах), кровеносных сосудах и в межклеточном пространстве, что и определяет активность нервной ткани в целом. Известно, что, с одной стороны, концентрация внеклеточного калия отвечает за значения мембранного потенциала покоя нейронов и астроцитов, а с другой – важное влияние на астроцитарную кальциевую динамику, приводящую к изменению межклеточного уровня калия, оказывают нейротрансмиттеры/нейромодуляторы, такие как глутамат, ГАМК, АТФ, норадреналин и другие. В работе построена математическая модель, в которой учтён широкий спектр процессов, протекающих в элементах нейроглиоваскулярной единицы, а также пути взаимодействий между ними.

Отметим основные особенности модели, за основу которой взята модель [1]. Для описания динамики мембранного потенциала нейронов использован модифицированный формализм Ходжкина–Хаксли с готовой параметризацией на основе внутриклеточных концентраций ионов и динамических характеристик мембранных токов на сети из двух типов нервных клеток: возбуждающих пирамидальных нейронов и тормозных интернейронов. Для связи с остальными элементами модели имеется хлорная проводимость, индуцируемая внеклеточной концентрацией ГАМК, и мульти-катионная проводимость, зависящая от внеклеточной концентрации нейромедиатора глутамата; при приходе потенциала действия на любой синапс учитывается выброс нейромедиаторов во внеклеточную среду, также добавлена гиперполяризующая проводимость, индуцируемая через  $\alpha 1$ -адренорецепторы.

Для описания различных состояний астроглии мы учитываем внутриклеточную кальциевую динамику, которая включает в себя обмен между цитозолем и эндоплазматическим ретикулумом, а также кальций-зависимую продукцию инозитолтрифосфата. Учтено влияние синтеза арахидоновой кислоты и её производных в зависимости от концентрации кальция. В описываемой модели НГВЕ кровеносный сосуд выступает в роли вспомогательного элемента, диаметр которого зависит от концентраций нейромедиаторов, ионов калия и метаболитов арахидоновой кислоты во внеклеточной среде. В зависимости от диаметра сосуда также находится концентрация кислорода в ткани, которая влияет на скорость образования вазоактивных метаболитов арахидоновой кислоты.

В межклеточной среде представлены динамически изменяющиеся концентрации ионов калия, влияющих на мембранный потенциал всех клеток в системе, концентрации нейромедиаторов глутамата и ГАМК, отвечающих за соответствующие проводимости в нейронах, и остальных метаболитов, взаимодействующих не только с нейронами, но и с кровеносным сосудом. В модели рассматривается влияние норадреналина (NA) как на кальциевую динамику астроцита, так и на функционирование НГВЕ в целом, посредством влияния NA на производство [IP3]. Кроме нейромедиаторов глутамата, норадреналина, ГАМК в модели предусмотрена возможность простого добавления других нейромедиаторов (серотонин, ацетилхолин и другие).

Вычислительная реализация модели была выполнена на языке Python с использованием программного пакета Brian 2 [2]. На основе серий вычислительных экспериментов проведена верификация предложенной модели и уточнение параметров в соответствии с результатами известных экспериментов. Показано, что изменение активности одиночных нейронов в ответ на изменение концентрации норадреналина и ГАМК схоже с подачей на них деполяризующего или гиперполяризующего тока: в сети из нейронов, входящих в состав одной НГВЕ, происходит общее повышение возбудимости в случае норадреналиновой стимуляции, и угнетение – в случае роста ГАМК. Оба эти механизма реализуются одновременно, но на разных временных масштабах, определяемых характерными временами захвата нейромедиаторов.

Дальнейшее развитие предложенной модели будет направлено на её расширение с учётом экспериментально известных данных на пространственную сеть связанных между собой НГВЕ. Такая модель позволит изучить особенности нервной активности на участке нервной ткани.

1. Verisokin A.Yu., Verveiko D.V., Kirsanov A.V. et al. Computational model of noradrenaline modulation of astrocyte responses to synaptic activity // *Mathematics*, 2023, vol. 11, no. 3, p. 628
2. Stimberg M., Brette R., Goodman D.F. Brian 2, an intuitive and efficient neural simulator // *Elife*, 2019, vol. 8, e47314.

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕТАЛЛОФТАЛОЦИАНИНОВ, АДСОРБИРОВАННЫХ НА ПОВЕРХНОСТЬ НАНОАЛМАЗОВ И УГЛЕРОДНЫХ НАНОТОЧЕК

Functional State of Metallophthalocyanines Adsorbed on the Surface of Nanodiamonds and Carbon Nanodots

Гвоздев Д.А., Гудкова В.Р., Нестерова В.В., Любанская А.Д., Цораев Г.В.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ, [danil131054@mail.ru](mailto:danil131054@mail.ru)

Поиск способов направленной доставки фотосенсибилизаторов (ФС) к мишеням воздействия с помощью наночастиц (НЧ) является широко развивающейся областью современной биофизики. НЧ здесь выступают как носитель векторных молекул, обеспечивающих селективность связывания с клетками определенных типов, а также могут иметь собственную функциональность (тераностика, фототермическая терапия и др.). Кроме того, НЧ связывают молекулы ФС, причем реализовать связывание можно с помощью ковалентной сшивки компонентов или путем неспецифической адсорбции ФС на поверхность НЧ за счет координационных, электростатических или гидрофобных взаимодействий. Развитие таких подходов требует тщательного анализа функционального состояния молекул ФС в составе сложных конъюгатов.

В данной работе мы исследовали особенности создания конъюгатов ФС и НЧ, стабилизированных нековалентными взаимодействиями. В качестве НЧ использовали наноалмазы (НА) детонационного синтеза производства ФГУП СКТБ «Технолог», Россия, и углеродные наноточки (уНТ), синтезированные нами гидротермальным методом из сахарозы и цитрата натрия (1:1, 200 мМ р-р в бидистиллированной воде) при 200 °С в течение 2 ч. Мы показали, что НА и уНТ не обладают цитотоксическим действием в отношении клеток линии НЕК293 в концентрациях до 1 мг/мл и могут быть использованы для биомедицинских приложений.

Размер НА, рассчитанный по данным электронной микроскопии, составил 5-8 нм, уНТ – 3-6 нм, что позволяет создавать конъюгаты с соотношением ФС:НЧ > 1:1. ИК-спектры изученных НЧ содержат полосы в области 1600-1720 см<sup>-1</sup>, соответствующие колебаниям межатомных связей в составе карбоксильных групп.  $\zeta$ -потенциал поверхности НА и уНТ составил -27 и -9 мВ, соответственно.

Для создания конъюгатов НЧ-ФС наночастицы смешивали в буферном растворе PBS с водорастворимыми металлофталочянинами (Фц): использовали поликатионные холинилфталочянины цинка и алюминия со средней степенью замещения 8 и 6.5, соответственно, а также октакарбоксифталочянины цинка и алюминия.

Установлено, что при нейтральном рН на поверхность изученных НЧ осуществляется адсорбция молекул Фц вне зависимости от типа атома металла, типа заместителей и их количества. Однако, адсорбция приводит к разным эффектам в зависимости от заряда молекулы Фц. Так, при образовании конъюгата с уНТ и НА наблюдается батохромный сдвиг Q-полосы поглощения поликатионных Фц, а также тушение флуоресценции Фц по статическому (в случае НА) или смешанному механизму (при адсорбции на уНТ длительность флуоресценции Фц снижается с 2-3 нс до ~100 пс). При этом на поверхности уНТ сохраняется небольшая фракция молекул Фц (~3%), способных к флуоресценции и генерации синглетного кислорода, которая была нами показана методом химических ловушек. В случае октакарбоксифталочянинов при адсорбции на поверхность уНТ и НА мы не наблюдали изменения положения и формы спектров поглощения и флуоресценции Фц; тушение флуоресценции Фц по статическому механизму наблюдали только при связывании с уНТ, причем при заполнении всех сайтов связывания на поверхности уНТ более 80% связанных молекул Фц сохраняют способность к флуоресценции и генерации синглетного кислорода.

Таким образом, в составе конъюгатов с НА и уНТ присутствуют две фракции молекул Фц, в функционально активном (проявляют фотодинамические свойства) и неактивном состояниях, причем соотношение фракций зависит от заряда молекулы Фц и типа НЧ. Обе фракции Фц достаточно прочно связаны с поверхностью наночастиц и не выходят из состава конъюгата при длительном диализе. Полученные зависимости способствуют пониманию принципов создания нековалентно стабилизированных конъюгатов углеродных наночастиц и заряженных молекул металлофталочянинов с заданными фотодинамическими свойствами.

## ОПИСАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО РАСПОЗНАВАНИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИСТЕМАХ МЕТОДАМИ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ СЛОЖНЫХ СИСТЕМ

Description of Molecular Recognition in Biological Supramolecular Systems by Methods of Statistical Physics of Complex Systems

Горовой Ю.М.

Ярославский государственный технический университет, г. Ярославль, РФ, [gorovoyj@mail.ru](mailto:gorovoyj@mail.ru)

Статистическую физику применяют при описании фундаментальных проблем биофизики. Л.А. Блюменфельд [1] особое внимание уделял парадоксу Гиббса, поскольку молекулярные машины –



физическая основа функционирования живых систем – характеризуются специфическим неоднородным фазовым пространством Гиббса. В.А. Твердислов [2] подчеркивал, что молекулярные машины являются хиральными иерархически организованными «конструкциями». Следовательно, хиральность должна проявляться в симметрии фазового пространства Гиббса таких молекулярных систем.

Илья Пригожин [3] положил в основу неравновесной статистической механики уравнение Лиувилля, описывающее плотность вероятности обнаружения системы в определенном элементарном объеме фазового пространства Гиббса. Для описания квантовых систем используют матрицу плотности (при этом форма уравнения Лиувилля сохраняется).

Автор применил подход Пригожина для описания сложных систем, состоящих из нескольких взаимодействующих подсистем [4]. Взаимодействие подсистем означает зависимость состояния каждой подсистемы от состояния других подсистем. Такая зависимость приводит к деформации фазового объема Гиббса сложной системы по сравнению с общим фазовым объемом Гиббса не взаимодействующих подсистем. Получен параметр  $I_c$ , характеризующий глубину деформации фазового объема Гиббса в результате взаимодействия подсистем. Этот параметр имеет три интерпретации: статистическую (как разность логарифмов фазовых объемов Гиббса взаимодействующих и не взаимодействующих подсистем сложной системы), термодинамическую (как разность теплоемкостей сложной системы и суммарной теплоемкости подсистем, составляющих эту систему) и, применительно к квантовым сложным системам, информационную ( $I_c$  – количество взаимной информации, которая характеризует глубину «запутанности» системы).

Разработанный подход оказался эффективным при описании супрамолекулярных систем, т.е. нативных биологических макромолекул со своим водным окружением. Две особенности таких систем: множество доступных конформаций (метастабильных состояний) и низкие энергетические барьеры перехода супрамолекулярной системы из одной конформации в другую позволили описать процесс изменения конформации как изменение параметра  $I_c$ . Доказаны теорема Лиувилля и теорема Нётер для классической и квантовой сложных систем [4,5]. Параметр  $I_c$  служит количественной мерой глубины изменения структуры и симметрии супрамолекулярной системы при изменении конформации сложной системы.

Разработанный подход позволил теоретически обосновать два явления [4,5]: эффект модифицирующего воздействия водного раствора антигена на рецептор, которое улучшает последующую рецепцию за счёт предорганизации рецептора, и дистантное взаимодействие супрамолекулярных систем за счет воздействия собственного электромагнитного излучения этих систем. Оба эти эффекта сводятся к реакции молекулярного распознавания. В этих эффектах происходит изменение конформации биологической супрамолекулярной системы, что позволило использовать параметр  $I_c$  для описания результатов экспериментов и для сопоставления данных разнородных экспериментов.

Разработанный подход позволяет описать реакцию молекулярного распознавания, как рецепцию информации [5].

Предложенный подход имеет более широкое применение. Параметр  $I_c$ , например, может служить мерой изменения хиральности супрамолекулярных систем.

1. Блюменфельд Л.А. Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики. М.: Едиториал УРСС, 2002, 160 с.
2. Твердислов В.А. Нарушение симметрии – физическая основа совершения «полезной работы» биологическими молекулярными машинами // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2022, т. 7, № 4, с. 552-556, doi: 10.29039/rusjbpc.2022.0559.
3. Пригожин И.Р. Неравновесная статистическая механика. М: УРСС, 2005, 312 с.
4. Gorovoy Y. The Relationship between Symmetry and Specific Properties of Supramolecular Systems // Symmetry 2022, vol. 14, p. 2070, doi: 10.3390/sym14102070.
5. Gorovoy Y., Rodionova N., Stepanov G. et al. Theoretical Description of Changes in Conformation and Symmetry of Supramolecular Systems During the Reception of a Molecular Signal // Int. J. Mol. Sci., 2025, vol. 26, p. 6411, doi: 10.3390/ijms26136411.

**МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ РЕДКИХ ТАУТОМЕРОВ ОСНОВАНИЙ ДНК ПРИ  
ОБЛУЧЕНИИ ОДНОЦЕПОЧЕЧНОЙ ДНК УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ СВЕТОМ**  
**Mechanism of Formation of Rare Tautomers of DNA Bases when Single-Stranded DNA is Irradiated with  
Ultraviolet Light**

**Гребнева Е.А.**

Донецкий физико-технический институт им. А.А. Галкина, г. Донецк, РФ, *grebneva@gmail.com*

Генетический материал вирусов может представлять собой одноцепочечные или двухцепочечные молекулы ДНК, а также одноцепочечные или двухцепочечные молекулы РНК. Для того, чтобы предсказать скорость образования мутаций в различных вирусах, необходимо разработать механизмы образования мутаций в одноцепочечных ДНК и РНК, и в двухцепочечных РНК и ДНК.

Мной были разработаны полимеразно-таутомерные модели ультрафиолетового мутагенеза [1-3], опирающиеся на гипотезу Уотсона и Крика [4] о том, что в основе мутагенеза лежит способность оснований ДНК находиться в различных таутомерных формах. Полимеразно-таутомерные модели ультрафиолетового мутагенеза [1-3] разработаны для двухцепочечной ДНК. В тоже время для построения полимеразно-таутомерных моделей образования различных мутаций в вирусах, в первую очередь, необходимо разработать механизмы образования редких таутомеров оснований ДНК и РНК, появляющихся при облучении одноцепочечных ДНК и РНК, и двухцепочечной РНК ультрафиолетовым светом.

Мной был разработан механизм образования редких таутомеров оснований ДНК при облучении двухцепочечной молекулы ДНК ультрафиолетовым светом [5]. Одноцепочечная ДНК находится в водной среде. При этом молекулы воды присоединяются к молекуле ДНК с помощью водородных связей. Механизм образования редких таутомеров, образующихся в молекулах двухцепочечной ДНК [5] справедлив и для молекул одноцепочечной ДНК.

Построена модель изменения таутомерных состояний в основаниях ДНК, входящих в одноцепочечную ДНК при облучении ее ультрафиолетовым светом. При облучении одноцепочечной ДНК, связанной с молекулами воды водородными связями, могут образовываться 7 редких таутомеров тимина, аденина, цитозина и гуанина, которые могут влиять на характер спаривания оснований. Все редкие таутомеры оснований ДНК, образующиеся в одноцепочечной ДНК, будут стабильными.

В работах [6, 7] была построена модель образования редких таутомеров оснований РНК, входящих в одноцепочечную РНК при облучении ее ультрафиолетовым светом. Было показано, что могут образовываться 7 редких таутомеров урацила и 7 редких таутомеров аденина [6], 7 редких таутомеров цитозина и 7 редких таутомеров гуанина [7], которые могут влиять на характер спаривания оснований. Все редкие таутомеры оснований РНК, образующиеся в одноцепочечной РНК, будут стабильными. Эти выводы хорошо сочетаются с прямыми экспериментальными данными [8, 9].

1. Grebneva H.A. Paradigm change in mutagenesis: polymerase-tautomeric models for targeted, delayed and untargated ultraviolet mutagenesis during error-prone and SOS replication of double-stranded DNA, containing cis-syn cyclobutane thymine dimers // International Journal of Molecular Biology: Open Access, 2019, vol. 4, no. 1, p. 1-15.

2. Grebneva H.A. Polymerase-tautomeric model for ultraviolet mutagenesis: targeted base substitution and frameshift mutations caused by cis-syn cyclobutane thymine dimers. Saarbrücken, Germany: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2017, 132 p.

3. Гребнева Е.А. Теория тепловой релаксации энергии возбуждения водородных связей в ДНК. Ее вклад в ультрафиолетовый мутагенез. Saarbrücken, Germany: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019, 345 c.

4. Watson J.D., Crick F.H.C. The structure of DNA // Cold spring Harbor symposia on quantitative biology, 1953, vol. 18, p. 123-131.

5. Grebneva H.A. Nature and possible mechanisms formation of potential mutations arising at emerging of thymine dimers after irradiation of double-stranded DNA by ultraviolet light // Journal of molecule structure, 2003, vol. 645, p. 133-143.

6. Гребнева Е.А. Механизм образования редких таутомерных форм урацила и аденина при облучении одноцепочечной РНК ультрафиолетовым светом // Физика и техника высоких давлений, 2024, т. 34, № 1, с. 96-104.

7. Гребнева Е.А. Механизм образования редких таутомерных форм цитозина и гуанина при облучении одноцепочечной РНК ультрафиолетовым светом // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2024, т. 9, № 1, с. 7-15.

8. Bebenek K., Pedersen L.C., Kunkel T.A. Replication infidelity via a mismatch with Watson-Crick geometry // Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2011, vol. 108, no. 5, p. 1862-1867.

9. Wang W., Hellinga H.W., Beese L.S. Structural evidence for the rare tautomer hypothesis of spontaneous mutagenesis // Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2011, vol. 108, no. 43, p. 17644-17648.

## ОТ МОЛЕКУЛ ДО КЛЕТОК: КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ МИКРОТРУБОЧЕК

### From Molecules to Cells: Computational Modeling of Microtubule Dynamics

Гудимчук Н.Б.<sup>1</sup>, Александрова В.В.<sup>1</sup>, Фёдоров В.А.<sup>1</sup>, Холина Е.Г.<sup>1</sup>, Коваленко И.Б.<sup>1</sup>, Атауллаханов Ф.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, [gudimchuk.nb@physics.msu.ru](mailto:gudimchuk.nb@physics.msu.ru)

<sup>2</sup> Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, г. Москва, РФ

В докладе рассматриваются современные подходы к моделированию микротрубочек и их элементарных блоков – димеров тубулина – на различных пространственно-временных масштабах: от атомарного уровня до масштаба целой клетки. Показано, как методы компьютерного и математического моделирования позволили прояснить механизмы динамического поведения микротрубочек и их роль в клеточных процессах, а также обсуждаются перспективы применения таких моделей для решения открытых проблем биофизики цитоскелета и митоза.

Тубулиновый цитоскелет представляет собой систему микротрубочек - цилиндрических полимеров белка тубулина, обладающих способностью к сборке, разборке и спонтанным переключениям между этими состояниями. Благодаря этим свойствам микротрубочки выполняют широкий спектр функций в клетке: от транспорта органелл и везикул до поддержания формы и пространственной организации. В митозе они образуют веретено деления, взаимодействуют с хромосомами и развивают силы, необходимые для точного распределения генетического материала. Для понимания механизмов динамики микротрубочек и их работы в качестве молекулярных «машин», использующих энергию гидролиза ГТФ, разработаны модели на разных уровнях. С помощью метода молекулярной динамики было показано, что нуклеотид (ГТФ или ГДФ), связываясь с тубулином, незначительно влияет на кривизну протофиламентов – линейных цепочек тубулина, но определяет изгибную жесткость междимерных связей [1]. Метод броуновской динамики позволил проанализировать влияние этих механических различий на поведение полимера тубулина и объяснить возможность фаз сборки и разборки микротрубочек [2]. Стохастические модели, основанные на алгоритме первой реакции Гиллеспи, были применены для исследования редких переключений между фазами сборки и разборки микротрубочек, известных как катастрофы и спасения [3,4]. Для описания функций микротрубочек в митозе разрабатывается многомасштабная модель CellDynaMo, объединяющая молекулярные и клеточные процессы [5]. Результатом работы на данный момент является согласованная совокупность моделей, охватывающая пространственные масштабы от ангстрем до десятков микрометров и временные - от наносекунд до часов. Глубокое понимание механизмов работы микротрубочек и их взаимодействия с другими клеточными структурами открывает перспективы целенаправленного контроля динамики цитоскелета, что может быть использовано для коррекции нарушений клеточного деления, в том числе при онкологических заболеваниях.

*Работа по моделированию микротрубочек на масштабах клетки выполнена при поддержке РФФИ (проект 25-74-20038) с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ им. М. В. Ломоносова.*

1. Fedorov V.A., Orekhov P.S., Kholina E.G., et al. Mechanical properties of tubulin intra-and inter-dimer interfaces and their implications for microtubule dynamic instability. // PLoS computational biology, 2019, vol. 15, no. 8, e1007327.

2. Gudimchuk N.B., Ulyanov E.V., O'Toole E. et al. Mechanisms of microtubule dynamics and force generation examined with computational modeling and electron cryotomography // Nat. Commun., 2020, vol. 11, no. 1, p. 3765.

3. Gillespie D.T. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. // J. Comput. Phys., 1976, vol. 22, no. 4, pp. 403-434.

4. Alexandrova V.V., Anisimov M.N., Zaitsev A.V. et al. A theory of tip structure-dependent microtubule catastrophes and damage-induced microtubule rescues. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2022, vol. 119, no. 46, e2208294119, pp. 1-10.

5. Kliuchnikov E., Zhmurov A., Marx K.A. et al. CellDynaMo—stochastic reaction-diffusion-dynamics model: Application to search-and-capture process of mitotic spindle assembly // PLoS computational biology, 2022, vol. 18, no. 6, e1010165.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БОРСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ С КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНОЙ

### Study of the Interaction of Boron-Containing Drugs with the Cell Membrane

Душанов Э.Б.<sup>1,2</sup>, Аксёнова С.В.<sup>1</sup>, Родригез Я.К.Д.<sup>3</sup>, Демидов С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, [kgyr@mail.ru](mailto:kgyr@mail.ru)

<sup>2</sup> Государственный университет «Дубна», г. Дубна, РФ

<sup>3</sup> Центр передовых исследований Кубы, г. Гавана, Куба

Для безопасного и эффективного терапевтического ответа при проведении бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ) требуется достижение относительно высокого поглощения опухолью борсодержащего препарата (приблизительно 30 мкг/г при его низкой токсичности) для нормальной ткани. В течение короткого периода времени между инфузией и нейтронным облучением должна поддерживаться высокая концентрация борсодержащих агентов в области опухоли, а после этого они должны быстро выводиться из нормальной ткани и системы кровообращения. В состав препаратов, используемых в бор-нейтронозахватной терапии, входят два вида борсодержащих агентов: 4-бороно-L-фенилаланин (BPA) и борокапнат натрия (BSH) [0, 0].

С применением методов молекулярной динамики был проведён детальный анализ структурных особенностей липидного бислоя POPC при взаимодействии с борсодержащими лигандами, а также определена их возможная концентрация на поверхности клеточной мембраны. Кристаллические структуры борсодержащих молекул определены в базе данных RCSB PDB (<https://www.rcsb.org>). Структура борфенилаланина выделена из последовательности 4-бороно-L-фенилаланин тРНК-синтазы в комплексе с 4-бороно-L-фенилаланином и аденозинмонофосфатом (5N5U, лиганд 7N8). Структура борокапната натрия извлечена из последовательности лизоцима куриного яйца с микроэлементом бора UTX-97 (5B5J, лиганд UTX). Молекула борокапната натрия параметризована общим потенциальным полем Amber (GAFF) с помощью программы асуре [0], топология была построена с помощью Ambertools [0].

Исследование взаимодействия наночастиц бора с клеточной мембраной показало, что данные лиганды способны спонтанно связываться с поверхностными компонентами липидного бислоя. Анализ структурных особенностей бислоя POPC при взаимодействии с лигандами BPA и BSH на основе метода молекулярной динамики показал изменения структурных параметров в зависимости от концентрации борсодержащих препаратов на поверхности мембраны. Результаты демонстрируют сохранение структурной целостности мембраны при контакте с изучаемыми соединениями. Полученные оценки пороговых значений концентраций на поверхности клеточной мембраны не противоречат экспериментальным данным.

Анализ результатов показал, что часть молекул борфенилаланина (50%) теряет связь с мембраной клетки, в то время как большая часть молекул борокапната натрия остаётся связанной с мембраной на протяжении всего времени моделирования. Таким образом, концентрация молекул борфенилаланина на поверхности клетки, возможно, будет не достаточной для эффективной БНЗТ в сравнении с концентрацией борокапната натрия (2 мг/г).

1. Hu Q., Padron K., Hara D. et al. Interactions of Urea-Based Inhibitors with Prostate-Specific Membrane Antigen for Boron Neutron Capture Therapy // ACS Omega, 2021, vol. 6, no. 49, pp. 33354-33369.

2. Ryabchikova M.N., Nelyubin A.V., Klyukin I.N. et al. Synthesis of New Promising BNCT Agents Based on Conjugates of closo-Dodecaborate Anion and Aliphatic Diamino Acids // International Journal of Molecular Sciences, 2025, no. 1 (26), p. 68, doi: 10.3390/ijms26010068.

3. Souse da Silva A.W., Vranken W.F. ACPYPE – Antechamber Python Parser Interface // BMC Research Notes, 2012, vol. 5, p. 367, doi: 10.1186/1756-0500-5-367.

4. Wang J., Wang W., Kollman P.A., Casa D.A. Automatic Atom Type and Bond Type Perception in Molecular Mechanical Calculations // Journal of Molecular Graphics and Modelling, 2006, vol. 25 (2), pp. 247-260, doi: 10.1016/j.jmgm.2005.12.005.

## СТАТИСТИКО-ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ ГИДРОФОБНОГО ЭФФЕКТА – НОВЫЙ ПОДХОД

### Statistical-Thermodynamic Theory of the Hydrophobic Effect - A New Approach

Евстигнеев М.П., Дегтяр А.Д., Лантушенко А.О., Гаджи А.В.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [max\\_evstigneev@mail.ru](mailto:max_evstigneev@mail.ru)

Гидрофобный эффект (ГЭ) или более узко – гидрофобные взаимодействия – является общезначимым физическим явлением, наблюдаемым для молекулярных систем любого уровня организации в полярных жидкостях. Особенно важную роль ГЭ играет в биологии, поскольку стабилизация вторичных и третичных

структур биополимеров, а также динамика эволюции биологически важных взаимодействий в биосистемах, во многом определяются именно ГЭ.

Несмотря на длительную историю изучения ГЭ (с 1945 г), огромного накопленного объема экспериментальных данных и наличие ряда полуэмпирических и эмпирических теорий, имеют место фундаментальные ограничения в существующей системе интерпретации термодинамических проявлений и механизма возникновения ГЭ, из которых наиболее значимыми, с нашей точки зрения, следующие:

1. Существующие теории ГЭ в некоторых случаях основываются на принципиально различной совокупности физических допущений (например, допущение о доминировании взаимодействия растворитель – растворитель, либо растворенное соединение – растворитель). При этом практически все теории в той либо иной мере демонстрируют качественное и/или количественное согласие своих выводов с одинаковыми наборами экспериментальных данных. Это прямо указывает на существование очевидного пробела в современной системе знаний о природе ГЭ.

2. Ни одна из существующих теорий ГЭ не дает численного описания всей совокупности экспериментально измеряемых изменений термодинамических потенциалов и их производных (ТД) (энергия Гиббса, энтальпия, энтропия, теплоемкость, растворимость) в широком температурном диапазоне. Это указывает на фактическую необъективность экспериментальной верификации существующих теорий.

3. До сих пор нет общепризнанного понимания природы ГЭ: какова роль упорядочения растворителя в окрестности растворенного вещества, как объяснить температурный ход ТД потенциалов, почему возникают нулевые значения изменения энтальпии и энтропии и экстремум гидрофобной растворимости, почему микро- и макроскопические коэффициенты поверхностного натяжения для гидрофобных молекул различаются многократно и пр.? Различные авторы дают различающиеся объяснения, из которых выстроить единую систему взглядов на ГЭ невозможно.

В настоящем докладе представлена новая неэмпирическая статистико-термодинамическая теория гидрофобного эффекта в полярных жидкостях – теория коррелированных состояний (CST-теория) [1]. Принципиальной новизной этого подхода является введение нового понятия – «коррелированное состояние пары растворенное вещество-растворитель», – которое может быть разрушено тепловой флуктуацией и, соответственно, может существовать в двух состояниях: коррелированное и некоррелированное состояния. В результате любое микросостояние растворенной гидрофобной молекулы задается мгновенной конфигурацией таких пар для растворенного гидрофобного вещества, следовательно, макросостояние системы может быть описано как тепловое равновесие коррелированных-некоррелированных пар в терминах большой статистической суммы в изобаро-изотермическом ансамбле. Такой подход позволяет получить аналитические выражения для термодинамических потенциалов и их производных, дать неэмпирическое описание термодинамического профиля ГЭ, и дать интерпретацию известным экспериментальным проявлениям ГЭ с новой позиции – равновесия «коррелированных состояний пар».

*Работа выполнена в рамках гранта РНФ №25-22-00085.*

1. Evstigneev M.P., Degtyar A.D., Lantushenko A.O. The Correlated States Theory of the Hydrophobic Effect // The Journal of Physical Chemistry B, 2025, vol. 129 (21), pp. 5245-5267.

## КВАНТОВО-МЕХАНИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЛЕКУЛЫ КВЕРЦЕТИНА

### Quantum-Mechanical Modelling of the Mechanism of Biological Activity of the Molecule of Quercetin

Зелеев М.Х.<sup>1</sup>, Хажина С.И.<sup>1</sup>, Закирьянова Г.Т.<sup>1</sup>, Шагапов Р.Р.<sup>1</sup>, Спирихин Л.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, РФ, [zeleevmarat2011@mail.ru](mailto:zeleevmarat2011@mail.ru)

<sup>2</sup> Институт органической химии УНЦ РАН, г. Уфа, РФ

В современной биологии и медицине одной из ключевых задач является разработка новых лекарственных средств и оптимизация уже существующих терапевтических подходов. Научные исследования в данной области направлены на повышение эффективности фармакотерапии, улучшение клинических исходов и достижение экономической целесообразности.

Фосфолипидные комплексы представляют собой многообещающие системы доставки лекарственных средств, демонстрируя высокую эффективность в повышении биодоступности активных компонентов. Эти комплексы обладают уникальными физико-химическими свойствами, которые способствуют оптимизации фармакокинетических параметров препаратов, что, в свою очередь, значительно улучшает их терапевтический потенциал.

В настоящей работе предпринята попытка установления связи «структура – биоактивность», при взаимодействии кверцетина с клеточным фосфатидилхолином. Кверцетин является представителем обширной группы флаваноидов с широким применением в медицинской практике. Для установления комплексов фосфатидилхолин – кверцетин проводили многократные расчеты методами квантовой химии с начальными конфигурациями расположения центров компонент комплекса на сетке с последующей оптимизацией ее

геометрии и поиском минимума энергии [1].

Многочисленные проведенные расчеты из разных исходных точек показали существование нескольких комплексов. Наибольшее значение энергии комплексообразования фосфатидилхолин-кверцетин наблюдается при взаимодействии  $\pi$  – системы электронов кольца С кверцетина с атомом N<sup>(1)</sup> холиновой группы лецитина при одновременной связи фосфатной группы лецитина с кольцом А кверцетина. Энергия комплексообразования составляет 9,3 ккал/моль. Рассчитанное расстояние между плоскостью кольца С кверцетина и атомом N<sup>(1)</sup> фосфатидилхолина составляет 4,97 Å. Значения заряда на ядрах углерода кольца С заметно выравниваются, степень ароматичности возрастает. Одновременно формирование комплекса сопровождается увеличением заряда на ядре N<sup>(1)</sup> холиновой головки фосфатидилхолина. При образовании комплекса происходит усреднение химического сдвига от углеродов C<sup>[2]</sup>, C<sup>[3]</sup>, C<sup>[4]</sup> холиновой группы фосфатидилхолина и происходит смещение спектра от 53,23 м.д. до значения 54,815 м.д. в сторону слабого магнитного поля. При этом наблюдается также изменение химического сдвига от C<sup>[7]</sup> примыкающего к фосфатной группе в сторону сильного поля на 1,318 м.д., что показывает образование комплекса обусловленная взаимодействием гидроксильной группы кверцетина O<sup>[19]</sup> с фосфатной группой фосфатидилхолина.

Результаты квантово-химических расчетов и спектроскопия ЯМР <sup>13</sup>C показывают, что наибольшая энергия комплексообразования фосфатидилхолин - кверцетин наблюдается при взаимодействии  $\pi$  – системы электронов кверцетина с атомом азота фосфатидилхолина. Энергия комплексообразования составляет 9,3 ккал/моль. Рассчитанное расстояние между плоскостью кольца С кверцетина и атомом азота N<sup>(1)</sup> фосфатидилхолина составляет 4,97 Å. Формирование комплекса сопровождается увеличением заряда на N<sup>(1)</sup> и отдалением друг от друга углеводородных “хвостов” приводящих к уменьшению плотности мембраны. Этот механизм может объяснить увеличение коэффициента диффузии клеточной мембраны под действием кверцетина.

При образовании комплекса ширина спектральных линий от <sup>13</sup>C и <sup>1</sup>H остаются неизменными, следовательно, комплекс является устойчивым и имеет достаточно длительное время жизни. Происходит возрастание сечения молекулы, что является одной из причин увеличения коэффициента диффузии клеточной мембраны под действием кверцетина [2].

1. Полушин Р.В., Ивашин В.П., использование *sar* и *qsar*-методологии для прогнозирования свойств супертоксикантов. Программный комплекс *comsat* для установления количественных соотношений структура-активность органических соединений, проявляющих субстратную специфичность к семейству сур450 человек // Бутлеровские сообщения. Russian Abstract, 2006, т. 9, № 4, с. 1-9.

2. Зелеев М.Х., Спирихин Л.В., Насибуллин Р.С. Взаимодействие клеточного лецитина с гистамином // Бутлеровские сообщения, 2017, т. 51, № 9, с. 89-93.

## СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ И ИК СПЕКТРЫ ХРОМЕНОПИРИДИНОВ, РЕАЛИЗОВАННЫХ В ВИДЕ ТАУТОМЕРНЫХ СМЕСЕЙ

### Structural-Dynamic Models and IR Spectrum of Chromenopyridines Realized at Tautomeric Mixture

Ивлиева (Перетокина) И.В., Мещерякова А.А., Бабков Л.М., Сорокин В.В.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, РФ *Irine09@yandex.ru*

С целью продолжения изучения новых систем ряда хроменового ряда нами были проведены реакции 2-(2-амино-6-*R*-3-циано-4Н-хромен-4-ил)малононитрила и амида цианоуксусной кислоты нами была получены хроменопиридины: таутомерная смесь 2-(4-амино-1-циано-5-имино-1,3,5,10b-тетрагидро-2Н-хромено[3,4-с]пиридин-2-илиден)-2- цианоацетамида (1a) и 2-циано-2-(4,5-диамино-1-циано-1,10b-дигидро-2Н-хромен[3,4-с]пиридин-2-илиден)ацетамида (1b) и таутомерная смесь 2-циано-2-(4,5-диамино-9-бром-1-циано-1,10b-дигидро-2Н-хромено[3,4-с]пиридин-2-илиден)ацетамида (2a) и 2-(5-амино-9-бром-1-циано-4-имино-1,3,4,10b-тетрагидро-2Н-хромено[3,4-с]пиридин-2-илиден)- 2-цианацетамида (2b). Установить строение подобных поли(гетеро)ароматических систем весьма затруднительно. В данной ситуации эту проблему можно разрешить на основе методов квантовой химии и спектроскопии. Высокий уровень развития современных методов построения структурно-динамических моделей позволяет установить строение молекулы и рассчитать ее колебательный спектр.

ИК спектры записывали на Фурье-спектрометре ФСМ 1201 (Россия) в таблетках KBr. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, HSQC <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C, COSY <sup>1</sup>H/<sup>1</sup>H, HMBC <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C записывали на спектрометре Varian (США) 400 МГц (400 МГц – <sup>1</sup>H) и 100 МГц (100 МГц – <sup>13</sup>C) в CDCl<sub>3</sub>, C<sub>3</sub>D<sub>6</sub>O, C<sub>2</sub>D<sub>6</sub>OS, внутренний стандарт TMS. Элементный анализ выполняли на автоматическом CHNS-анализаторе VarioMICROcube (Германия). Температуру плавления определяли в открытом капилляре. Контроль за протеканием реакций осуществляли с помощью ТСХ; элюент гексан–этилацетат–хлороформ, 2:2:1; пластины FlukaSilicagel/TLC cards 254 нм проявляли в УФ-свете и в парах йода. Контроль за температурой осуществляли с помощью оптоволоконного температурного сенсора, мощность – 630 Вт.

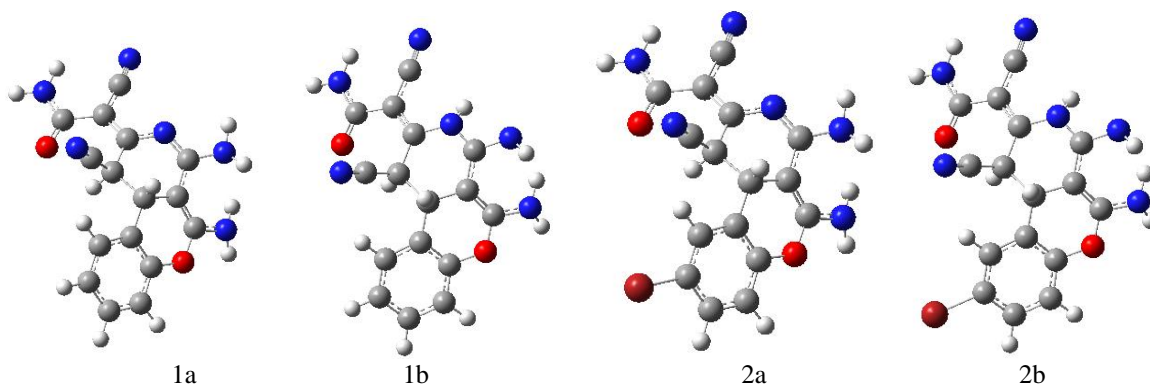


Рисунок 1. Геометрическое строение молекул 1a, 1b, 2a, 2b

Целью нашей работы было построение структурно-динамических моделей соединений, установление структуры и получение ИК спектров - и интерпретация на этой основе ИК спектра смеси таутомеров.

Методом теории функционала плотности B3LYP/6-31g(d) [1,2], реализованным в программном пакете GAUSSIAN'03 [3] проведено моделирование геометрической структуры и ИК спектров соединений в гармоническом приближении. Рассчитаны геометрические параметры исследуемых соединений (рис. 1).

Таким образом, установлена структура соединений, составляющих смеси исследуемых веществ и рассчитаны их ИК спектры. Подтверждено их наличие в смеси, установлена их идентификация по спектрально-структурными признаками. Дана интерпретация измеренных ИК спектров.

1. Кон В. Электронная структура вещества – волновые функции и функционалы плотности // УФН, 2002, т. 172, № 3, с. 336-348.
2. Попл Дж. А. Квантово-химические модели // УФН, 2002, т. 172, № 3, с. 349-356.
3. Frisch J., Trucks G.W., Schlegel H.B. Gaussian03, Revision B.03; Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003, 302 p.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРЕХМЕРНЫХ СТРУКТУР ОКТАПЕПТИДНОГО И НОНАПЕПТИДНОГО НЕЙРОПЕПТИДОВ

### Comparative Analysis of Three-Dimensional Structures of Octapeptide and Nonapeptide Neuropeptides

**Исмаилова Л.И., Ахмедова С.Р., Ахмедов Н.А.**

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан,  
*lara.ismailova.52@mail.ru*

В настоящее время в терапии и профилактике заболеваний широко используются пептиды, для которых сам человеческий организм служит основным резервом. Выяснение структурно-функциональных свойств пептидов имеет большое прикладное значение в медицине и фармакологии. Пространственное строение и конформационные возможности двух нейропептидных молекул Pro1-Pro2-Gly3-Leu4-Gly5-Pro6-Leu7-Arg8-NH<sub>2</sub> и Leu1-Pro2-Pro3-Gly4-Pro5-Leu6-Pro7-Arg8-Pro9-NH<sub>2</sub> были исследованы с помощью метода теоретического конформационного анализа. Экспериментальные данные [1] показали, что нонапептидная молекула, выделенная из морского анемона, является биологически активным нейропептидом, а октапептидная молекула лишена биологической активности. Потенциальная энергия каждой молекулы включала рассмотрение суммы невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Для каждого нейропептида находились низкоэнергетические конформации, значения двугранных углов основной и боковых цепей аминокислот, входящих в них, оценивалась энергия внутри- и межостаточных взаимодействий.

Если сравнить аминокислотные последовательности этих двух нейропептидов, то следует отметить, что их состав отличается большим содержанием аминокислоты пролин, равным содержанием аминокислот лейцина и аргинина. Нейропептидные молекулы являются повсеместно распространенным классом выдающихся сигнальных пептидных молекул. Расчет конформационных возможностей каждой молекулы проводился фрагментарно. Для октапептида на первой стадии рассчитывались конформационные возможности тетрапептида Pro1-Pro2-Gly3-Leu4 на основе стабильных конформаций монопептидов N-ацетил-L- Pro, N-ацетил-L-Gly и N-ацетил-L- Leu. Затем изучалась пространственная структура гексапептида Pro1-Pro2-Gly3-Leu4-Gly5-Pro6. Далее, на третьем этапе, найденные низкоэнергетические конформации гексапептидной молекулы и низкоэнергетические конформации дипептида Leu7-Arg8 позволили оценить конформационные возможности октапептидной молекулы Pro1-Pro2-Gly3-Leu4-Gly5-Pro6-Leu7-Arg8-NH<sub>2</sub>.

Найдено, что для октапептида возможны одиннадцать низкоэнергетических пространственных структур. Обнаружены жесткие и лабильные участки молекулы. Глобальной конформацией этой молекулы является BBBB<sub>3222</sub>PRR<sub>2122</sub>B<sub>3222</sub> шейпа eeeffff (E<sub>отн</sub>=0 кДж/моль). В этой пространственной структуре N-концевой участок

имеет развернутую структуру, а С-концевой пентапептидный участок имеет свернутую структуру. Такой ход основной цепи обеспечивает сближенность боковых цепей молекулы и их эффективное взаимодействие с основной цепью молекулы. В этой конформации эффективными являются невалентные и электростатические взаимодействия. Для боковой цепи Arg8 построенные конформационные карты показали отсутствие конформационной подвижности. Боковая цепь Arg8 вызывает эффективные взаимодействия с аминокислотами внутри октапептида, возможно, поэтому октапептидная молекула Pro1-Pro2-Gly3-Leu4-Gly5-Pro6-Leu7-Arg8-NH<sub>2</sub> является неактивной. В глобальной конформации боковая цепь Arg8 эффективно взаимодействует с аминокислотами, входящими в октапептидную молекулу. Так взаимодействия Arg8-Pro2 составляют (-24,4 кДж/моль), Arg8-Gly3 (-4,2 кДж/моль), Arg8-Leu4 (-12,6 кДж/моль), Arg8-Gly5 (-10,1 кДж/моль) и Arg8-Pro6 (-2,1 кДж/моль). Видно, что боковая цепь Arg8 осуществляет эффективные взаимодействия со всеми предшествующими остатками молекулы, поэтому она не может взаимодействовать с рецептором. Следовательно, молекула не может являться активной.

Расчет пространственной структуры нонапептида Leu1-Pro2-Pro3-Gly4-Pro5-Leu6-Pro7-Arg8-Pro9-NH<sub>2</sub> выполнялся так же фрагментарно. Начальная стадия расчета пространственного строения нонапептидной молекулы включала расчет трехмерной структуры N-концевого пентапептидного участка Leu1-Pro2-Pro3-Gly4-Pro5. Расчет пентапептида и дипептидного фрагмента Leu6-Pro7 позволил оценить конформационные возможности гептапептида Leu1-Pro2-Pro3-Gly4-Pro5-Leu6-Pro7. Наконец, результаты расчета этого гептапептида и дипептида Arg8-Pro9 дали возможность определить пространственную организацию всей нонапептидной молекулы.

Показано, что пространственную структуру молекулы нонапептида Leu1-Pro2-Pro3-Gly4-Pro5-Leu6-Pro7-Arg8-Pro9-NH<sub>2</sub> можно представить восемью структурными типами. Можно предположить, что молекула свои физиологические функции выполняет именно в этих структурах. Самой низкоэнергетической конформацией оказалась форма основной цепи B<sub>2122</sub>BRBRB<sub>2122</sub> RB<sub>3122</sub> B (шейп eefefefe), которая имеет полусвернутый ход основной цепи. Глобальная конформация нонапептида имеет вытянутую полусвернутую форму основной цепи. Такая форма сближает участки основной цепи и боковые цепи аминокислот, входящих в нонапептидную молекулу, и дает возможность им эффективно взаимодействовать. Построенные конформационные карты для углов боковой цепи аргинина обнаружили конформационную свободу. Будучи направленной в растворитель, конформационно свободная боковая цепь аргинина может объяснять наличие активности у нонапептидной молекулы. Энергия взаимодействия боковой цепи Arg8 со всеми остатками нонапептидной молекулы составляет всего (-25,0 кДж/моль). Направленная в растворитель и конформационно свободная она может отвечать за связь нонапептида с молекулой рецептора.

На основе полученных трехмерных структур, можно предположить для данной молекулы ее синтетические аналоги и исследовать конформационные возможности боковых цепей аминокислотных остатков, входящих в молекулу.

1. Carstensen K., Kenneth L. et al. Isolation of Leu-Pro-Pro-Gly-Pro-Leu-Pro-Ag-Pro-NH<sub>2</sub> an N-terminally protected, biologically active neuropeptide from sea anemones // *Peptides*, 1992, vol. 13, no. 5, pp. 851-857.

## НОВЫЙ СТРУКТУРНЫЙ МОТИВ: КОМБИНАЦИЯ β-ШПИЛЬКИ И ЧЕТЫРЁХТЯЖЕВОГО β-ЛИСТА

### A Novel Structural Motif: A Combination of β-Hairpin and Four-Stranded β-Sheet

Каргатов А.М.

Институт белка РАН, г. Пущино, Московская обл., РФ, [kargatov@vega.protres.ru](mailto:kargatov@vega.protres.ru)

Структурными мотивами (супервторичными структурами) принято считать структуры, образованные двумя или более α-спиралями и/или β-тяжами, которые могут многократно повторяться в молекуле одного белка или часто встречаться в негомологичных белках.

Был обнаружен новый структурный мотив, представляющий собой β-лист из четырёх последовательно упакованных β-тяжей, концы которого замыкают структуру в подобие β-шпильки. При этом β-лист оказывается в её петле и образует с замыкающими β-тяжами общее гидрофобное ядро (рис. 1). Назовём этот мотив 4β-замком. 4β-замок может быть правым или левым в зависимости от того, правая или левая β-шпилька лежит в его основе (в правой цепь поворачивает направо, если смотреть со стороны гидрофобного ядра, а в левой – налево).

Существует предположение, что замыкание структуры в цикл увеличивает её стабильность, позволяя ей выступать в качестве зародыша при сворачивании белка [1].

Из базы данных CATH (<https://cathdb.info>) было отобрано 43 негомологичных белка, содержащих 43 4β-замка, причём 39 (91%) из них правые, и только 4 (9%) – левые. Таким образом, установлено, что 4β-замок является не просто универсальным строительным блоком, но обладает хиральностью – способностью существовать преимущественно в одной из двух псевдозеркальных форм.



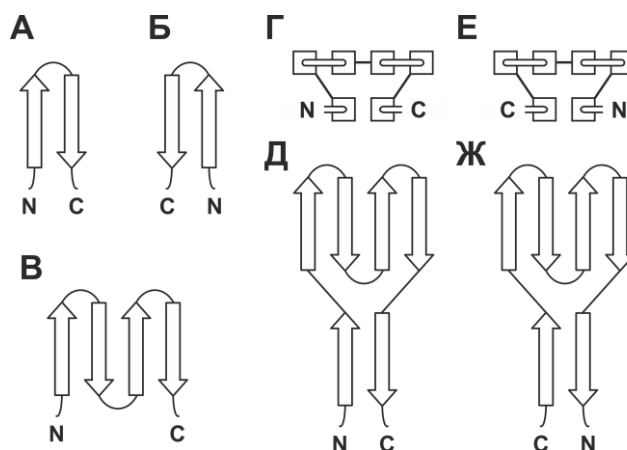


Рисунок 1. 4 $\beta$ -замок и образующие его структуры. Стрелками показаны  $\beta$ -тяжи, N и C – обозначения концов цепи. (А) Правая  $\beta$ -шпилька. (Б) Левая  $\beta$ -шпилька. (В)  $\beta$ -лист из четырёх  $\beta$ -тяжей. (Г) Правый 4 $\beta$ -замок, вид с торца. Квадратиками показаны  $\beta$ -тяжи, двойными линиями – петли со стороны зрителя, одинарными – петли с противоположной стороны. (Д) Плоское представление правого 4 $\beta$ -замка. (Е) Левый 4 $\beta$ -замок, вид с торца. (Ж) Плоское представление левого 4 $\beta$ -замка

Это свойство может быть связано с тем, что в правых  $\beta$ -шпильках расстояние между  $\text{C}\alpha$ -атомами, обращёнными в гидрофобное ядро, больше, чем в левых. Поскольку площадь гидрофобной поверхности у четырёхтяжевого  $\beta$ -листа вдвое превышает таковую у  $\beta$ -шпильки, более рыхлая упаковка её боковых цепей способствует увеличению площади контакта между гидрофобными поверхностями и повышает стабильность структуры.

1. Ефимов А.В. Замкнутые в циклы структуры в глобулярных белках // Усп. биол. хим., 2011, т. 51, с. 25-36.

## СВЯЗЬ МЕЖДУ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ К ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ УЛЬТРАЗВУКОВОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ ДНК И ДИНАМИКОЙ САХАРНОГО КОЛЬЦА

Relationship Between the Specificity of Ultrasonic Cleavage of DNA Sequence and the Dynamics of the Sugar Ring Relationship Between Sequence Specificity of Ultrasonic DNA Cleavage and Sugar Ring Dynamics

Ковалева Н.А.<sup>1</sup>, Ильичева И.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, РФ, [natykov@gmail.com](mailto:natykov@gmail.com)

<sup>2</sup> Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда РАН, Москва, РФ, [imb\\_irina@rambler.ru](mailto:imb_irina@rambler.ru)

Интенсивность ультразвукового расщепления фосфодиэфирных связей двойной спирали В-ДНК в растворе, по данным электрофореза в полиакриламидном геле, зависит от последовательности нуклеотидов и их положения относительно концов рестрикционных фрагментов [1]. Это расщепление носит механохимический характер, однако, в отличие от расщепления полимеров, построенных из идентичных мономерных звеньев, на расщепление в разных позициях которых влияет лишь их удаленность от концов фрагментов, в случае ДНК мы обнаруживаем дополнительную модуляцию интенсивности последовательностью нуклеотидов. Экспериментально полученное ранее статистически значимое распределение интенсивностей расщепления всех 16 динуклеотидов (см. Рис. 1) указывает на влияние конформационных характеристик 5'-концевых нуклеотидов и независимость расщепления комплементарных цепей ДНК [1]. Анализ распределения 5'-концевых нуклеотидов во фрагментах геномной ДНК (ридах), полученных с помощью ультразвука, небутизации, или методом Каварис для последующего NGS-секвенирования дал аналогичный результат [2]. Это означает, что ряд известных ошибок NGS секвенирования могут быть вызваны отсутствием случайности расщепления геномной ДНК на фрагменты, и понимание причины этого эффекта приобретает не только теоретическое, но и практическое значение. Сложность анализа этого явления заключается в том, что на интенсивности расщепления различных позиций ДНК могут влиять не только гидродинамические и механохимические силы, но и особенности конформационного поведения самой ее структуры.

Цель данной работы – выявить связь между контекстно-зависимой динамикой двойной спирали В-ДНК и интенсивностями ультразвукового расщепления в разных позициях нуклеотидных последовательностей. Мы провели молекулярно-динамические расчеты на 1  $\mu\text{s}$  траекториях, анализ которых показал, что времена жизни N- и S-состояний фуранозных колец в В-ДНК и частота их S $\leftrightarrow$ N переходов зависят от типа нуклеотидов и их контекстов. Были использованы различные показатели конформационной динамики  $\beta$ -D-дезоксирiboзы:

распределение фазовых углов и процент конформеров N-типа в различных динуклеотидах в разных контекстах; относительное время жизни N-состояния одновременно в обоих 5'-концевых нуклеотидах комплементарных двухцепочечных динуклеотидов и относительное время жизни N-состояния одновременно в соседних нуклеотидах вдоль цепи; частота перехода S→N в глубокую N-область (то есть в конформации с фазовым углом менее 60 градусов) и максимальное время жизни последующего глубокого N-состояния; а также определены размеры популяций нуклеотидов с острым углом между связью C3'-O3' и осью спирали в динуклеотидах в зависимости от контекста. Сравнение результатов моделирования со статистикой интенсивности расщепления тетра нуклеотидов [1], позволило нам выявить наиболее вероятные типы внутримолекулярных движений, способствующих ультразвуковому расщеплению [3].

1. Grokhovsky S.L., Il'icheva I.A., Nechipurenko D.Y. et al. Sequence-specific ultrasonic cleavage of DNA // *Biophys. J.*, 2011, vol. 100, pp. 117-125, doi: 10.1016/j.bpj.2010.10.052.

2. Poptsova M.S., Il'icheva I.A., Nechipurenko D.Y. et al. Non-random DNA fragmentation in next-generation sequencing // *Scientific reports*, 2014, vol. 4, p. 4532.

3. Il'icheva I.A., Kovaleva N.A. Sequence-specific cleavage of DNA under ultrasound is due to intramolecular dynamics. 1. Sugar Ring Dynamics within the Dickerson–Drew dodecamer (in press).

## ГЕНОМЫ БАКТЕРИЙ ИМЕЮТ ВНУТРЕННЕЕ ФОРМАТИРОВАНИЕ

### Bacterial genomes have internal formatting

Коротков Е.В.

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии РАН», г.Москва, РФ,  
*bioinf@yandex.ru*

Известно, что бактериальный геном упакован в нуклеоид посредством взаимодействия ДНК с определенными белками. Из-за этой упаковки можно предположить, что в бактериальном геноме могут существовать слабо похожие семейства дисперсных повторов (ДП), которые ранее не были обнаружены разработанными компьютерными методами. Поэтому мы решили искать ДП в бактериальных геномах в диапазоне  $1,0 \leq x \leq 1,7$ , где  $x$  - среднее число мутаций на нуклеотид между любыми двумя повторами из семейства. Для этого мы разработали *de novo* метод для идентификации ДП, основанный на использовании случайных позиционно-весовых матриц (PWM) и итеративной процедуры (IP) [1]. Созданный алгоритм (метод IP) позволяет обнаруживать ДП, для которых среднее число замен между любыми двумя повторами на нуклеотид ( $x$ ) меньше или равно 1,7.  $Z$ , который приблизительно является аргументом для нормального распределения, используется в качестве оценки статистической значимости найденных повторов.

Мы применили этот метод для поиска ДП в геномах *E.coli* и 42 бактерий из других бактериальных родов и смогли идентифицировать семейства повторов, включающие от  $1,0 \times 10^3$  до  $1,4 \times 10^4$  копий, в зависимости от вида бактерии [2]. Число ложных позитивов составляет менее 1%. Каждая бактерия содержит только одно семейство дисперсных повторов длиной от 440 до 580 оснований. Найденные повторы занимают от 18 до 40% бактериального генома и более 90% повторов встречаются в кодирующих последовательностях генома. Они наложены на кодирующую область в качестве мотива. Около половины найденных ДП пересекаются на плюс и минус нитях в геномах бактерий. Было обнаружено, что районы пересечений найденных ДП в геномах бактерий содержат большое число зеркально комплементарных кодонов [3]. Для районов пересечения ДП была рассчитана матрица триплетной периодичности  $mt(i,j)$ , где  $i$  есть позиция в кодоне, а  $j$  есть нуклеотид. Матрицы  $MT(i,j)$  для изученных геномов бактерий можно разделить на два класса. Первый класс содержит ячейки  $mt(1,G)$ ,  $mt(2,A)$ ,  $mt(2,T)$  и  $mt(3,C)$ , а второй класс ячейки  $mt(1,G)$ ,  $mt(2,C)$ ,  $mt(3,A)$  и  $mt(3,T)$ , в которых число нуклеотидов значительно больше, чем это можно было бы ожидать для случайных последовательностей. соответственно. Если район пересечения ДП перевернуть на 180 градусов и перекодировать основания на комплементарные, то в первом классе ячейки  $mt(1,G)$ ,  $mt(2,A)$ ,  $mt(2,T)$  и  $mt(3,C)$  сохранятся. Во втором классе происходит тоже, но с циклическим матрицы сдвигом вправо на одно основание. Обнаруженная симметрия может быть связана со вторым правилом Чаргаффа и указывать на районы, где наиболее часто происходят инверсии и вставки фрагментов ДНК.

Такие обширные семейства повторов не удалось обнаружить в проанализированных геномах с помощью программ RED, RECON или Repeat\_masker. Это можно сделать только методом IP, который смог найти *de novo* семейства повторов с  $x \leq 1,7$ , тогда как все другие программы могут найти дисперсные повторы для  $x \leq 1,0$ . Существование таких дисперсных повторов показывает, что бактериальные геномы размечены примерно как жесткий диск компьютера. Эта разметка может быть вовлечена в создание жидкокристаллической структуры внутри бактериальной ДНК посредством взаимодействий между повторами внутри семейства и некоторыми белками [4].

1. Korotkov E., Suvorova Y., Kostenko D., Korotkova M. Search for Dispersed Repeats in Bacterial Genomes Using an Iterative Procedure // *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, 10964, doi: 10.3390/IJMS241310964/S1.

2. Korotkov E., Korotkova M. Detection of Dispersed Repeats in the Genomes of Bacteria from Different Phyla // IPSJ Trans. Bioinforma, 2024, vol. 17, pp. 55-63, doi: 10.2197/IPSJTBIO.17.55.
3. Korotkov E.V. Mirror Complementary Triplet Periodicity of Dispersed Repeats in Bacterial Genomes // Symmetry, 2025, vol. 17, p. 549, doi: 10.3390/SYM17040549.
4. Yevdokimov Y.M., Salyanov V.I., Skuridin S.G. From liquid crystals to DNA nanoconstructions // Mol. Biol., 2009, vol. 43, pp. 284-300, doi: 10.1134/S0026893309020113/METRICS.

## MULTIMODAL INTERACTION OF SELECTED FLAVONOIDS WITH DNA

Kocharyan G.H.<sup>1</sup>, Vardevanyan P.O.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> A.B. Nalbandyan Institute of Chemical physics NAS RA, Yerevan, Armenia, *kocharyangg@ichph.sci.am*

<sup>2</sup> Institute of Biology, Yerevan State University, Yerevan, Armenia

The interaction of ligands with double-stranded DNA is fundamental to many intracellular processes. In particular, proteins that bind to specific target DNA sequences regulate various processes such as regulation, transcription, and translation. Low molecular weight compounds – ligands can influence the structure and functional properties of DNA upon binding. From this perspective, the study of ligand – DNA binding is one of the key areas in the screening and design of compounds with both fundamental and applied significance. Due to the complex double-helical structure of DNA, various modes of DNA – ligand binding are possible. In this study, plant-derived polyphenols – flavonoids were used as ligands. (quercetin, chrysin and 3-hydroxiflavon). The relevance of studying flavonoids is due to their broad spectrum of biological activities. These compounds exhibit anti-inflammatory, antifungal, and antiviral properties and play a significant role in preventing the development of neurodegenerative diseases.

The present work focuses on determining the quantitative binding parameters ( $K$  – binding constant and  $n$  – the number of DNA base pairs corresponding to one ligand binding site) and identifying the types of interactions. The interaction of flavonoid with DNA was investigated using SWV titration with a three-electrode bioanalytical system. To determine the binding parameters, the binding curve of flavonoid with DNA was transformed into Scatchard coordinates, and nonlinear regression analysis was used to calculate the binding parameters based on the values of  $r/C_f$  and  $r$ , in accordance with the neighbor exclusion model of McGhee and von Hippel (Equation 1) [1].

$$r/C_f = K(1 - nr) \left[ \frac{1 - nr}{1 - (n-1)r} \right]^{n-1} \quad (1)$$

To characterize the interaction qualitatively, binding curves of flavonoid with DNA were plotted in Scatchard coordinates, as shown in Figure 1. The resulting adsorption isotherms exhibit two linear regions, corresponding to two distinct modes of binding. From these curves, the binding constants ( $K$ ) and the number of DNA base pairs per binding site ( $n$ ) for the two binding modes were determined and summarized in Table 1.

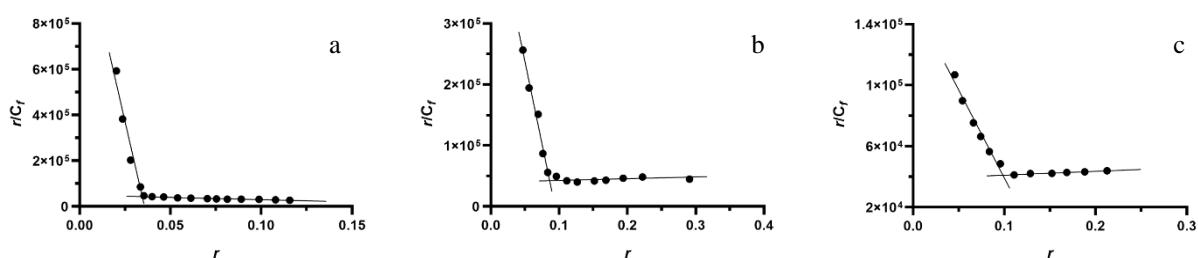


Figure 1. Binding curves of flavonoids with DNA in Scatchard's coordinates, obtained at the ionic strength of the solution 0.154 M at 37°C (a) quercetin, (b) chrysin and (c) 3-hydroxiflavon

Table 1. Values of the multimodal binding parameters for flavonoid–DNA interaction at 37°C and in a 0.154 M NaCl solution

Flavonoid	$K, M^{-1}$		$n$	
	$K_1$	$K_2$	$n_1$	$n_2$
Quercetin	$1.06 \times 10^6$	$4.03 \times 10^4$	5.61	1.24
Chrysin	$5.07 \times 10^5$	$3.95 \times 10^4$	4.92	1.39
3-hydroxiflavon	$1.55 \times 10^5$	$3.80 \times 10^4$	3.73	1.00

From the data presented in Table 1, it is evident that flavonoid exhibits two distinct binding modes, corresponding to strong and weak modes of interaction with DNA. The presence of two binding modes also supported by the observations that  $K_1 > K_2$  and  $n_1 > n_2$ .

The quantitative parameters of flavonoid – DNA interaction have been determined. It has been demonstrated that selected flavonoids bind to DNA through strong and weak interaction modes, indicating that it is a multimodal ligand.

*The work was supported by the Science Committee of RA, in the frames of the research project № 21AG-1D34.*

1. Tavadyan L.A., Minasyan S.H., Kocharyan G.H. et al. Exploring the interaction of ethidium bromide and Hoechst 33258 with DNA by means of electrochemical approach // *Biophysical Reviews and Letters*, 2017. vol. 12. pp. 151-161, doi: 10.1142/S1793048017500084.

## НЕКОТОРЫЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССИНГА пиРНК В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ У МЫШИ

### Some Thermodynamic Features of the Regulation piRNA Processing in Somatic Cells in the Mouse

Кузьмичев С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Российский университет медицины, г.Москва, РФ,

<sup>2</sup> НИИ канцерогенеза «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» г. Москва, РФ, [kuzs19782005@mail.ru](mailto:kuzs19782005@mail.ru)

Исследования роли малых некодирующих РНК в регуляции экспрессии генов остаются перспективным направлением молекулярной биологии. В тоже время, этапы процессинга микроРНК (миРНК) и пиРНК (РНК, взаимодействующих с белками PIWI), которые в отличие от миРНК могут иметь большую длину последовательностей – от 24 до 35 нуклеотидов (нк), и уридин в 1-ом положении на 5'-конце молекулы, а также механизмы выбора РНК, как матрицы для синтеза пиРНК изучены недостаточно [1]. Не известно влияние на эти процессы короткоцепочных фрагментов деградации пре-миРНК (small degradation fragment, или s.d.f.), которые представлены в базе miRBase, версия 22.1, как транскрипты длиной 16-19 нк. Поскольку механизм выбора РНК у мыши *Mus musculus* для их процессинга в пиРНК не известен, не исключено, что в качестве транскриптов, содержащих пиРНК, могут выступать и некоторые пре-миРНК, т.е. предшественники миРНК [1,2]. В отличие от процессинга миРНК, для процессинга пиРНК не требуется рибонуклеаза РНКазы III Dicer [1,2]. Целью нашей работы было изучение влияния некоторых термодинамических параметров различных пре-миРНК, и отличий в нуклеотидном составе их терминальной петли на процессинг пиРНК-подобных транскриптов (транскриптов пиРНК) у мыши. По данным [1] процессинг пиРНК может происходить на матрице одноцепочных РНК, следовательно, чтобы молекулы пре-миРНК могли принимать в нем участие, необходим их дефолдинг из структуры подобной шпильке. В связи с этим сравнивалась MFE фолдинга, содержание G и C между пре-миРНК, и количество прочтений транскриптов пиРНК, которые входят в состав пре-миРНК. Оценивалась способность s.d.f. участвовать в регуляции процессинга на основе определения количества разных сайтов их возможной гибридизации с рядом пре-миРНК. Последовательности сиквенсов 457 пре-миРНК для анализа взяты из базы miRBase, версия 22.1. Для вычисления MFE фолдинга пре-миРНК использовалась программа RNAfold (<http://rna.tbi.univie.ac.at>), а расчета % GC в пре-миРНК - программный пакет molbiotools (<https://molbiotools.com>). Количество сайтов гибридизации между пре-миРНК и s.d.f. определялось с помощью программы RNAhybrid 2.2 (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid/>), наименьшее MFE было  $\leq -20$  ккал/моль, что повышало вероятность гибридизации [3]. Влияние нокдауна Dicer на процессинг пиРНК из пре-миРНК оценивалось на основе данных [2]. Статистический анализ проводился с помощью программы Statistica 10. Поиск последовательностей из сиквенсов пре-миРНК, в том числе из клеток нейробластомы N2a [1] в базе данных (<https://ipdb2.shinyapps.io/ipdb2>) выявил транскрипты пиРНК длиной 22-30 нк, некоторых пиРНК было более 1000. Так как количество фрагментов пре-миРНК может зависеть от ее длины, а скорость процессинга и деградация разных пре-миРНК могут отличаться – нормировалось количество прочтений транскриптов пиРНК относительно всех транскриптов для каждой пре-миРНК. Наш анализ показал, что с уменьшением MFE фолдинга пре-миРНК и возрастанием в них G и C достоверно снижалась количество транскриптов пиРНК длиной от 25 до 29 нк, особенно для пре-миРНК с не менее 1 парой GC в их терминальной петле (коэффициенты корреляции Спирмена:  $R = -0,6$  с MFE и  $R = -0,87$  с %GC). Возрастание % G и C в пре-миРНК позволяет образовывать более стабильную структуру и препятствует дефолдингу. Наличие в петле пре-миРНК мотивов CAUC или UAUC, которые распознаются белком YBX-1, способным осуществлять дефолдинг пре-миРНК [4], сопровождалось увеличением процессинга пиРНК ( $p < 0,01$ ). Для транскриптов пиРНК от 23 до 24 нк корреляции их количества с %GC в пре-миРНК не обнаружено, что указывает на возможность их процессинга не зависимо от дефолдинга пре-миРНК, и предполагает участие других рибонуклеаз. Причины большего количества транскриптов пиРНК от 25 до 29 нк, выявленных для пре-миРНК, у которых обнаружено умеренное количество сайтов гибридизации с s.d.f. (6-10 сайтов) будут обсуждаться в докладе. Таким образом, результаты нашего биоинформатического анализа показали, что механизмы процессинга для отличающихся числом нк транскриптов пиРНК из последовательностей пре-миРНК различные.

1. Sun Y.H., Lee B., Li X.Z. The birth of piRNAs: how mammalian piRNAs are produced, originated, and evolved // *Mammalian Genome*, 2022, vol. 33, pp. 293-311, doi: 10.1007/s00335-021-09927-8.

2. Li N., You X., Chen T. et al. Global profiling of miRNAs and the hairpin precursors: insights into miRNA processing and novel miRNA discovery // *Nucleic Acids Research*, 2013, vol. 41, no. 6, pp. 3619-3634, doi: 10.1093/nar/gkt072.

3. Li H., Fan J., Zhao Y. et al. Nuclear miR-320 mediates diabetes-induced cardiac dysfunction by activating transcription of fatty acid metabolic genes to cause lipotoxicity in the heart // *Circ. Res.*, 2019, vol. 6, no. 125, pp. 1106-1120, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.314898.

4. Wu S.-L., Fu X., Huang J. et al. Genome-wide analysis of YB-1-RNA interactions reveals a novel role of YB-1 in miRNA processing in glioblastoma multiforme // *Nucleic Acids Research*, 2015, vol. 43, no. 17, pp. 8516–8528, doi: 10.1093/nar/gkv779.

### **РАЗРАБОТКА КОМПЬЮТЕРНОЙ ПРОГРАММЫ ДЛЯ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО АНАЛИЗА НАУЧНЫХ СТАТЕЙ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

**Development of a Computer Program for Automated Analysis of Scientific Articles in the Design of Medicinal Preparations**

**Левченко И.Н.<sup>1,4</sup>, Панкратов В.С.<sup>2</sup>, Бакаева А.И.<sup>1</sup>, Левченко А.А.<sup>3</sup>, Машковцева Е.В.<sup>1</sup>, Макаренко Е.Ю.<sup>1</sup>, Липенгольц А.А.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва, РФ.

<sup>2</sup> Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, г. Москва, РФ.

<sup>3</sup> Пермский национальный исследовательский политехнический университет, г. Пермь, РФ.

<sup>4</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ.

<sup>5</sup> «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, РФ, [irnlevchenko@yandex.ru](mailto:irnlevchenko@yandex.ru)

Разработана и апробирована программа для автоматизированного поиска показателей токсичности при анализе научных статей по необходимым параметрам радиофармпрепаратов при конструировании лекарственных средств.

Проведен отбор 9000 статей по необходимым параметрам токсичности, таким как LD50, для создания датасета при обучении нейросети по автоматическому поиску и заполнению таблиц, указывая источник.

Поиск статей по необходимым параметрам осуществлялся в виде заданий автоматического анализа текста, поиска и оптимизации информации из научных статей в интернете, которые определялись по DOI. Нужные параметры токсичности предполагались заданными и описанными в уже опубликованных научных статьях, которые есть в открытом доступе. В итоге все найденные параметры токсичности в статьях вносились в таблицу автоматически при помощи этой же обученной нами нейросети, которая не только указывала все параметры токсичности радиофармпрепаратов подразделяя на классы, но и вносила название статьи и ее авторов.

Решение задачи по автоматизации было необходимо для снятия существенного ограничения машинных систем – способности функционировать только в узкой предметной фармацевтической области. Облегчив при этом работу поиска параметров токсичности радиофармпрепаратов.

### **ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОРФИРИНОВОГО КОЛЬЦА В СОСТАВЕ ГЕТЕРОГЕННОГО КАТАЛИЗАТОРА. ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ, АКТИВИРУЕМАЯ КУМАРИНАМИ C<sub>525</sub>, C<sub>314</sub> И C<sub>334</sub> ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИНОМ**

**Studying the Structure of a Porphyrin Ring as Part a Heterogeneous Catalyst. Chemiluminescence, Activated by Coumarins C<sub>525</sub>, C<sub>314</sub> and C<sub>334</sub> under the Action of Cytochrome C with Cardiolipin.**

**Левченко И.Н.<sup>1,5</sup>, Панкратов В.С.<sup>2</sup>, Владимиров Г.К.<sup>3</sup>, Левченко А.А.<sup>4</sup>, Володяев И.В.<sup>5</sup>.**

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва, РФ.

<sup>2</sup> Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, г. Москва, РФ.

<sup>3</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ.

<sup>4</sup> Пермский национальный исследовательский политехнический университет, г. Пермь, РФ.

<sup>5</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, [irnlevchenko@yandex.ru](mailto:irnlevchenko@yandex.ru)

Применение физических активаторов способствует усилению интенсивности свечения на 2–3 порядка, не влияя на химические процессы, проходящие в системе химических реакций. Физические активаторы природные красители кумарины C<sub>525</sub>, C<sub>314</sub> и C<sub>334</sub> перехватывают возбуждение у триплетно-возбужденных кетонов, образующихся при рекомбинации перекисных радикалов по механизму Рассела и являются флуоресцентными зондами. Моделирование порфиринового кольца в составе цитохрома С с кардиолипином в окружении природных красителей флуоресцентных зондов кумаринов C<sub>525</sub>, C<sub>314</sub> и C<sub>334</sub> показало, что при нейтральном pH гем

в цитохроме *C* существует в низко-спиновой конфигурации, при этом хемилюминесценция люминола на 3–4 порядка выше, чем сами возбужденные кетоны.

Точность нашего исследования определяется наличием кардиолипина для стабилизации pH, тушением  $\text{Fe}^{2+}$  и присутствием природных красителей кумаринов  $C_{525}$ ,  $C_{314}$  и  $C_{334}$ . Факторы, которые искажают параметры моделирования порфиринового кольца в составе цитохрома *C* с кардиолипином в окружении флуоресцентных зондов кумаринов  $C_{525}$ ,  $C_{314}$  и  $C_{334}$ : не достаточное добавление пероксида водорода, избыточное количество азота (II), метанола, денатурация белка, изменение конформации цитохрома *C* в комплексе цитохрома *C* с кардиолипином. Проанализированы системы липопероксидазной и квазилипоксигеназной реакций.

Цитохром *C* в комплексе с кардиолипином отличается от нативного цитохрома по следующим свойствами: (1) Обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков; (2) Теряет поглощение в полосе Soret (405–410 нм) в результате разрыва координационной связи железа гема с серой Met (80) в цитохроме *C*; (3) Обладает ферментативной активностью; (4) Катализирует образование липидных радикалов в мембране в окружении обоих флуоресцентных зондов природных красителей кумарина  $C_{525}$  и кумарина  $C_{314}$ . (5) Ферментативная активность зависит не только от концентрации цитохрома *C* с кардиолипином, но и от соотношения, определяющего процент абсолютного количества денатурированной формы; (6) Микровязкость мембраны в окружении физических активаторов обладает разным коэффициентом поляризации; (7) При нейтральном pH гем в цитохроме *C* существует в низко-спиновой конфигурации, и железосодержащий центр шестиугольно координирован пирролическими азотами из порфиринового кольца и аксиальными лигандами Met (80) и His (18) апопротеина;

Природный краситель кумарин  $C_{525}$  «классический» физический активатор хемилюминесценции люминола окисляется цитохромом *C* в комплексе с кардиолипином, лучше, чем природные красители кумарин  $C_{314}$  и кумарин  $C_{334}$  при этом скорость этого окисления ограничивается лишь концентрацией самого цитохрома *C*, который тоже разрушается в составе гетерогенного катализатора под действием пероксида водорода.

Полученные нами результаты могут стать основой для создания лекарственных препаратов нового образца, которые, являясь элементами клетки, соответственно, влияют на раковые клетки и нечувствительны к синтетическим препаратам.

## МЕТОД ВЫЧИСЛЕНИЯ ХИРАЛЬНОСТИ СУПЕРСПИРАЛЕЙ И В-ЛИСТОВ БЕЛКОВ Method of Protein Superhelices and $\beta$ -Sheets Chirality Calculation

Луценко А.О., Сидорова А.Э.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, [aleksluchrus@yandex.ru](mailto:aleksluchrus@yandex.ru)

Важным вопросом в науке о белках является определение принципов и механизмов формирования структуры белка, установление взаимосвязи между структурой и функциями молекул. Одним из наглядных проявлений физических закономерностей в строении белков является однозначная склонность к гомохиральности отдельных белковых структурных элементов на различных иерархических уровнях. Так, отмечено, что протеиногенные аминокислоты в составе белков имеют левую конфигурацию; регулярные спиральные вторичные структуры одних типов ( $\alpha$ -спирали, спирали  $3_{10}$ ) закручиваются в правую сторону, другие (полипролиновые спирали) – в левую [1]. Суперспирали, состоящие из нескольких спиралей того или иного типа, как правило, имеют направление закрутки, противоположное направлению закрутки составляющих спиралей [1]. Другим часто встречающимся типом регулярных вторичных структур белков являются  $\beta$ -тяжи. Во многих белках несколько тяжей стабилизируются вместе водородными связями, образуя надвторичный  $\beta$ -лист. В научной литературе нет устоявшегося мнения относительно знака хиральности этих структур.

Настоящая работа представляет собой попытку формализации и решения задачи о качественном и количественном вычислении хиральности надвторичных белковых структур. В работе предлагается метод и алгоритм её расчета. Объектами изучения являются суперспирали типа coiled-coil и  $\beta$ -листы.

Для расчета хиральности в алгоритме используются трёхмерные координаты  $\alpha$ -углеродов аминокислот белка из базы данных PDB [2]. Дополнительная информация о суперспиралях типа coiled-coil получена из базы данных CCdb [3].

В настоящей работе предлагается усовершенствованная версия ранее опубликованного нами метода [4]. В основе метода лежит построение осей отдельных спиралей и оси суперспирали, а также вычисление угла поворота спиралей вокруг оси суперспирали. В обновлённом методе предлагается строить оси суперспиралей не прямыми линиями, а ломаными. Такой подход позволяет учитывать не только общее направление суперспирали, но и её локальные изгибы в трехмерном пространстве. Во многих случаях это позволило существенно улучшить точность результатов. Кроме того, такой подход позволяет производить расчеты для более коротких суперспиралей. Согласно усовершенствованному методу, минимально необходимая для расчетов длина суперспирали, измеряемая в аминокислотных остатках, составляет всего 6 остатков, по сравнению с 12 аминокислотными остатками, согласно предыдущему методу [4].

Методика опробована на более чем 900 суперспиралях типа coiled-coil из базы CCdb [3]. Результаты вычислений показали, что среди суперспиралей типа coiled-coil наблюдается явное преобладание



левозакрученных структур (около 98% от общего количества). Методика также применима для расчета хиральности  $\beta$ -листов при учёте особенностей строения как отдельных тяжей, так и всей структуры  $\beta$ -листов. Были обработаны более 500  $\beta$ -листов, и расчеты показали, что около 95,5% из них имеют правую закрутку. Физические причины, обуславливающие преобладание правых листов, требуют дальнейшего исследования.

1. Твердислов В.А., Малышко Е.В. О закономерностях спонтанного формирования структурных иерархий в хиральных системах неживой и живой природы // Успехи физических наук, 2019, т. 189, № 4, с. 375-385.
2. RCSB PDB. Веб-сайт: <https://www.rcsb.org/>
3. Laboratory of Structural Bioinformatics CCdb. Веб-сайт: <https://lbs.cent.uw.edu.pl/ccdb>
4. Lutsenko A. et al. A Method for Calculating the Sign and Degree of Chirality of Supercoiled Protein Structures // Symmetry, 2023, vol. 15, no. 11, p. 2051.

## СРАВНЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ СРЕДИ ГЕНОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ДЛЯ РОДА *ARTEMIA* Comparison of Promising Molecular Markers among the Genes of the Mitochondrial Genome for the Genus *Artemia*

Мегер Я.В., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [yvmeger@sevsu.ru](mailto:yvmeger@sevsu.ru)

Проблематика систематики рода *Artemia* регулярно привлекает внимание ученых. Наряду с видами, размножающимися половым путем, известны также партеногенетические популяции разной ploidy. Исследования динамики популяций и эволюционного развития особей, использующих оба способа размножения, активно проводятся в настоящее время. Использование стандартного подхода генотипирования по участку гена COI показал свою недостаточную разрешающую способность [1].

С целью выявления перспективного фрагмента для популяционно-генетических исследований для данного рода были проанализированы 13 белок-кодирующих фрагментов и два рРНК участка на предмет их внутривидовой и межвидовой изменчивости, консервативности участков посадки праймеров, также по построенным деревьям на основе данных фрагментов проанализированы параметры достоверности топологии.

Интересно отметить, что топология дерева, построенного по самому вариабельному участку ND6, имеет иной порядок расхождения узлов, чем в референсном, и использование этого участка для филогенетических исследований нецелесообразно. Следующим по величине изменчивости после ND6 является фрагмент ATP8, который был выбран в качестве перспективного.

Лучше показатели правдоподобия, а также сочетание высокой межвидовой изменчивости и малой внутривидовой вызвали интерес к фрагменту ATP8-ATP6. Дерево по данному фрагменту обладает наибольшими показателями правдоподобности для данного рода в рамках исследованной выборки. Топология полученного дерева совпадает с консенсусной в научном сообществе [2].

Исходя из высокой изменчивости ATP8 целесообразно использование консервативного участка, кодирующего тРНК рядом с ним. Выбранная схема положения праймеров показана на рисунке 1.



Рисунок 1. Схема посадки праймеров для секвенирования выбранного фрагмента.

Таким образом, для изучения внутривидовых и межвидовых различий, а также уровня консерватизма областей связывания праймеров было проанализировано тринадцать белоккодирующих фрагментов и два участка рибосомальной РНК (рРНК) митохондриального генома представителей рода *Artemia*. По результатам исследования был выделен наиболее подходящий участок, пригодный для дальнейшего филогенетического анализа. Для перспективного фрагмента ATP8-ATP6 разработаны праймеры для посадки на консервативные регионы митохондриального генома

*Работа выполнена в рамках государственного задания Севастопольского государственного университета «Фотобиофизический мониторинг окружающей среды на основе спектрально-флуоресцентных свойств, структурно-организованных молекулярных (включая наночастицы) и супрамолекулярных биологически важных систем (FEFM-2023-0005).*

1. Muñoz J., Gómez A., Green A.J., et al. Phylogeography and local endemism of the native Mediterranean brine shrimp *Artemia salina* (Branchiopoda: Anostraca) // Mol. Ecol., 2008, vol. 17 (13), pp. 3160-3177.

2. Asem A. et al. Mitogenomic phylogeny and divergence time estimation of *Artemia* Leach, 1819 (Branchiopoda: Anostraca) with emphasis on parthenogenetic lineages // BMC genomics, 2025, vol. 26, no. 1, p. 228.

## ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ КОЛЛАГЕНОВ ТЕПЛОКРОВНЫХ И ХЛАДНОКРОВНЫХ ОРГАНИЗМОВ: ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ АМИНОКИСЛОТ

### Thermostability of Collagens from Warm-blooded and Cold-blooded Organisms: The Dependence on Amino Acid Composition and Sequence

Мещерякова О.В.<sup>1</sup>, Богданов М.А.<sup>2</sup>, Ефимов А.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, РФ, [mesch@krc.karelia.ru](mailto:mesch@krc.karelia.ru)

<sup>2</sup> Университет ИТМО, г. Санкт-Петербург, РФ

<sup>3</sup> Институт белка РАН, г. Пушкино Московской обл., РФ, [efimov@protres.ru](mailto:efimov@protres.ru)

Ранее нами показано, что термостабильность коллагенов животных коррелирует с количеством гидрофобных аминокислотных остатков в их составе: чем больше гидрофобных остатков в молекуле, тем выше температура денатурации (плавления) коллагена [1,2]. Анализируя эту зависимость, мы обнаружили, что существуют различия между теплокровными и хладнокровными организмами. В частности, при одной и той же доле гидрофобных аминокислотных остатков термостабильность коллагена у теплокровных организмов может быть на несколько градусов выше, чем у хладнокровных. Для изучения причин этого наблюдения мы проанализировали аминокислотный состав последовательностей  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  и  $\alpha 3$  цепей коллагена типа I теплокровных и хладнокровных организмов с целью выяснить, чем различаются типы субъединиц между собой, и как субъединичный состав коллагенов может влиять на термостабильность их тройных спиралей. Поиск последовательностей осуществляли в банке UniProt. Нами установлены следующие особенности аминокислотного состава субъединиц коллагенов теплокровных и хладнокровных животных, влияющие на термостабильность.

Последовательности  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  и  $\alpha 3$  цепей (субъединиц) коллагена типа I хладнокровных организмов в целом содержат гораздо больше пар Gly-Gly, чем теплокровных. Наибольшее количество пар Gly-Gly содержится в последовательностях рыб арктических и антарктических зон обитания (ледяные и лососевые рыбы). Увеличение количества пар Gly-Gly в последовательностях субъединиц коррелирует с уменьшением термостабильности коллагенов и у теплокровных, и у хладнокровных организмов. Это можно объяснить тем, что цепи с большим содержанием пар Gly-Gly имеют большую подвижность и гибкость, что приводит к уменьшению их стабильности. Анализ результатов множественного выравнивания показывает, что увеличение пар глицинов происходит, преимущественно, за счет уменьшения количества гидрофобных аминокислотных остатков аланина, иминокислот и валина.

Установлено, что количество пролина (иминокислот) в последовательностях  $\alpha 1$  и  $\alpha 2$  коллагена типа I у теплокровных превышает его количество у хладнокровных организмов, при этом содержание пролина коррелирует с термостабильностью коллагенов. Содержание пролина в субъединицах оказывает влияние на создание общей гидрофобности тройной спирали. Так, при одинаковом количестве гидрофобных аминокислотных остатков хладнокровные организмы имеют меньшее количество пролина и меньшие параметры термостабильности коллагенов. Очевидно, у хладнокровных организмов стабилизация тройной спирали при определенной температуре может происходить не только за счет изменения количества гидрофобных аминокислотных остатков, но и варьированием между ними. Например, более гидрофобные аминокислоты (пролин и гидроксипролин) могут быть заменены на менее гидрофобные, например, аланин.

Сравнение последовательностей теплокровных и хладнокровных организмов показало, что они имеют существенные различия по содержанию остатков серина: чем больше серина в субъединицах, тем ниже термостабильность коллагенов. Сравнительный анализ показывает, что увеличение содержания серинов коррелирует с уменьшением количества гидрофобных остатков (преимущественно пролина) и понижением термостабильности коллагенов. Отсюда следует, что уменьшение содержания гидрофобных остатков иминокислот для стабилизации коллагенов при холодных температурах сопровождается их преимущественной заменой на серин, гидроксильная группа которого обращена не внутрь тройной спирали, а наружу, и таким образом, не участвует в создании водородных связей, обеспечивающих термостабильность цепи.

Анализ содержания аланина показывает, что эта аминокислота с одной стороны обеспечивает гидрофобные свойства цепей коллагенов и ее количество в последовательностях уменьшается при снижении температуры обитания теплокровных и хладнокровных организмов. С другой стороны, невысокий уровень гидрофобности аланина и очень широкий диапазон значений этого остатка у хладнокровных организмов позволяет рассматривать его как вариант замены на другие остатки для изменения уровня гидрофобности молекулы.

Работа выполнена в рамках государственных заданий КарНЦ РАН FMEN-2022-0017 и Института белка РАН FFRN-2024-0007.



1. Efimov, A.V. Protein stability to the effect of denaturing agents and elevated temperature is directly proportional to the fraction of hydrophobic residues in its molecule // Mol. Biol. (Moscow), 1987, vol. 21, no 1., pp. 62-72.

2. Meshcheryakova O.V., Bogdanov M.A., Efimov A.V. Relationship between thermal stability of collagens and the fraction of hydrophobic residues in their molecules // J. Struct. Biol., 2024, vol. 216 (3), 108114, doi: 10.1016/j.jsb.2024.108114.

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЦЕПЕЙ РЕЦЕПТОРА И ЛИГАНДА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ**  
**Investigation of Intermolecular Amino Acid Chain Interactions in Tumor Necrosis Factor Receptor-Ligand Complex**

**Назарьев Е.В., Мишунин Б.А., Пластун И.Л.**  
Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина, г. Саратов, РФ  
*bogdan.mishunin@gmail.com*

Фактор некроза опухоли (ФНО), или tumor necrosis factor (TNF), представляет собой внеклеточный белок, относящийся к цитокинам, регулирующим межклеточные и межсистемные взаимодействия. Этот белок вырабатывается клетками крови при опухолях и воспалении и обеспечивает согласованность действия нервной, иммунной и эндокринной систем в нормальных условиях и в ответ на патологические воздействия. Главной особенностью TNF является способность оказывать цитотоксическое действие на некоторые опухолевые клетки, вызывая их геморрагический некроз в условиях *in vivo*, при этом не повреждая здоровые клетки.

В статье [1] приведено гидрофобное и гидрофильное взаимодействие между рецептором и лигандом в петлях d-ε и α-α' TNFβ. Задачей нашей работы является исследование взаимодействия аминокислотных цепей рецептора и лиганда. Для анализа степени комплексообразования будем рассматривать параметры водородных связей, как один из основных показателей степени межмолекулярного взаимодействия.

Молекулярное моделирование комплексообразования, включающее расчёт структур и ИК спектров молекул и их комплексов, проводилось на основе метода теории функционала плотности (ТФП) при помощи программных комплексов Gaussian и Orca. В качестве визуализатора молекулярных структур использовались программы Avogadro и GaussView.

На рисунке 1 приведен комплекс, полученный в результате взаимодействия участка аминокислотной цепи рецептора (глутамин-цистеин) с молекулой лизина, принадлежащей субъединице А лиганда. Параметры образовавшихся водородных связей (обозначены цифрами) приведены в таблице 1.

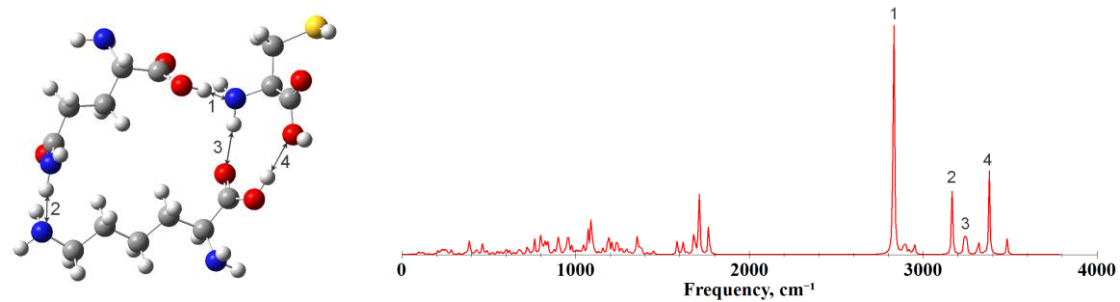


Рисунок 1. Рассчитанные структура и ИК-спектр молекулярного комплекса гистидин-цианин-лизин. Цифрами обозначены образовавшиеся между молекулами водородные связи

Таблица 1. Параметры водородных связей

Комплекс	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота ν, cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг Δν, cm <sup>-1</sup>	Энергия связи ΔH, kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
Q+C	O-H...N	1.76	2.77	2841	655	7.4	1727
K+Q+C (1)	O-H...N	1.75	2.76	2831	665	7.5	1881
K+Q+C (2)	N-H...N	2.04	3.07	3176	233	4.2	434
K+Q+C (3)	N-H...O	1.99	3.02	3240	63	1.4	251
K+Q+C (4)	O-H...O	1.95	2.93	3381	116	2.6	569

Как видно из таблицы 1, присутствие лизина усилило межмолекулярное взаимодействие на рассмотренном участке цепи рецептора.

1. Banner D.W., D'Arcy A., Janes W. et al. Crystal structure of the soluble human 55 kd TNF receptor-human TNF beta complex: implications for TNF receptor activation // *Cell*, 1993, vol. 73 (3), pp. 431-445, doi: 10.1016/0092-8674(93)90132-a.

## АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ПРИ СВЯЗЫВАНИИ ЛИГАНДОВ НА ДНК: ИСТОРИЯ И БУДУЩЕЕ

### Allosteric ligand binding to DNA: history and future

Нечипуренко Ю.Д.<sup>1</sup>, Угрюмов К.А.<sup>1,2</sup>, Василенко Е.О.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва, РФ, *nech99@mail.ru*

<sup>2</sup> Московский физико-технический институт, г. Москва, РФ

<sup>3</sup> Сколковский институт науки и технологий, г. Москва, РФ

<sup>4</sup> Институт системной биологии и медицины, г. Москва, РФ

В 1970-е годы было обнаружено, что изотермы связывания антибиотиков с ДНК свидетельствуют о взаимодействиях между адсорбированными молекулами, которые распространяются на несколько витков вдоль ДНК [1,2]. Такие взаимодействия удалось описать при помощи потенциалов, зависящих от расстояния между лигандами [3,4]. Взаимодействие между удалёнными лигандами сразу было сопоставлено с открытой ранее аллостерией белков, то есть взаимным влиянием связанных на белках лигандов. Были обнаружены как кооперативные, так и антикооперативные взаимодействия между лигандами [5]. Предполагалось, что лиганд при связывании с ДНК переводит несколько пар нуклеотидов рядом с собой в возмущённое состояние и это возмущение распространяется вдоль ДНК. Механизм такого явления был установлен позднее: применение рентгеновской дифракции к ДНК-белковым комплексам показало, что связанные белки раздвигают бороздки, тем самым создавая менее или более выгодные места посадки последующих белков в соответствии со спиральной симметрией ДНК. Были построены модели, описывающие участие такого механизма в регуляции экспрессии генов. В настоящее время ставится задача описания на уровне системной биологии сигнальных путей в клетке через аллостерические взаимодействия целых каскадов белков, в том числе посредством конформационных изменений ДНК.

В 1971 году впервые были получены уравнения, описывающие взаимодействия между удалёнными лигандами на ДНК [3]. Этот подход был далее развит, чтобы учесть возможность образования разных типов комплекса лигандов с ДНК, например, связывания лигандов в разных ориентациях [4, 6]. Экспериментальная проверка моделей проводилась в основном путём изотермического титрования, при котором связывание лигандов отслеживались при помощи флуоресценции [1, 2] или кругового дихроизма [7]. Сейчас же исследователям доступны базы данных с тысячами структур ДНК-белковых комплексов, например, PDIdb [8]. Это открывает возможности для перехода на уровень структурной биоинформатики. Сегодня изучаются распространённые паттерны водородных связей в ДНК-связывающих мотивах, предлагаются структурные классификации белков в связи по предпочитаемым ими локальным геометриям ДНК. Сейчас известно, что аллостерия между удалёнными белками механически обусловлена изгибами в ДНК [9]: растяжением или сжатием больших и малых бороздок, созданием локальных изгибов, выпуклостей и даже петель.

1. Крылов А.С. и др. Взаимодействие флуоресцентно-меченых аналогов антибиотика дистамицина А с синтетическими полидезоксирибонуклеотидами // *Биофизика*, 1979, т. 24, № 1, с. 181-188.

2. Krylov A.S., Grokhovsky S.L., Zasedatelev A.S. et al. Quantitative estimation of the contribution of pyrrolcarboxamide groups of the antibiotic distamycin A into specificity of its binding to DNA AT pairs. // *Nucleic Acids Research*, 1979, vol. 6, pp. 289-304.

3. Заседателев А.С., Гурский Г.В., Волькенштейн М.В. Теория одномерной адсорбции. 1. Адсорбция малых молекул на гомополимере // *Молекулярная биология*, 1971, т. 5, № 2, с. 245-251.

4. Нечипуренко Ю.Д. Анализ связывания биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами. Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2015.

5. Нечипуренко Ю.Д., Крылов А.С., Заседателев А.С., Гурский Г.В. Взаимодействия между аналогами антибиотика дистамицина А, адсорбированными на ДНК // *Молекулярная биология*, 1984, т. 18, с. 332-342.

6. Нечипуренко Ю.Д., Заседателев А.С., Гурский Г.В. Теория одномерной адсорбции на гомополимере. Учет различных ориентаций молекул лиганда // *Биофизика*, 1979, т. 24, № 2, с. 351-361.

7. Dattagupta N., Hogan M., Crothers D.M. Interaction of netropsin and distamycin with deoxyribonucleic acid: electric dichroism study // *Biochemistry*, 1980, vol. 19, no. 26, pp. 5998-6005.

8. Norambuena T., Melo F. The protein-DNA interface database // *BMC bioinformatics*, 2010, vol. 11, no. 1, p. 262.

9. Kim S. et al. Probing allostery through DNA // *Science*, 2013, vol. 339, no. 6121, pp. 816-819.

## ДИНАМИЧЕСКИЕ ГИДРАТНЫЕ ОБОЛОЧКИ БИОМОЛЕКУЛ Dynamic Hydrate Shells of Biomolecules

Пеньков Н.В.

Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН,  
Московская обл., г. Пущино, [nvpentkov@rambler.ru](mailto:nvpentkov@rambler.ru)

Гидратация способствует формированию нативной структуры биомолекул. В то же время биомолекулы влияют на структуру окружающей воды, формируя гидратные оболочки. То есть биомолекула вместе с гидратной оболочкой является взаимосвязанной системой. Долгое время гораздо больше внимания уделялось изучению структуры биомолекул, чем их гидратных оболочек. Недавно появившаяся терагерцовая (ТГц) спектроскопия показала намного большую чувствительность к гидратным оболочкам, чем другие методы. Это объясняется тем, что характерные энергии и времена ТГц диапазона соответствуют межмолекулярной структуре и динамике воды, а гидратные оболочки есть ни что иное, как вода с изменённой структурой и динамикой. С помощью ТГц спектроскопии было выяснено, что гидратная оболочка не ограничивается привычными одним-двумя слоями молекул воды, а достигает протяжённости до нескольких нм, то есть может занимать объём даже больший, чем сама биомолекула. При описании столь протяжённых гидратных оболочек часто говорят не об их структуре, а о динамике, которая отличается от невозмущённой воды. Поэтому был введён термин «динамические гидратные оболочки» [1]. Показано множество корреляций между функциональным состоянием биомолекул и ТГц характеристиками их динамических гидратных оболочек, что интерпретировано как соучастие гидратных оболочек в функционировании биомолекул [2]. Однако эти корреляции имеют характер эмпирический и не объяснены на молекулярном уровне. Основной причиной тому является сложность расшифровки ТГц спектров водных растворов из-за их нехарактеристичности.

В наших работах развивается подход, позволяющий изучать динамические гидратные оболочки биомолекул, используя данные ТГц время-разрешённой спектроскопии (THz-TDS). Подход основан на анализе комплексных диэлектрических спектров водных растворов биомолекул и соответствующих водных растворов без биомолекул с существенным использованием моделей эффективной среды. Это позволяет получать сравнительные характеристики гидратной и не гидратной воды и интерпретировать их в терминах связанности воды, количества свободных молекул, параметров водородных связей, времени молекулярной релаксации и др., то есть в терминах межмолекулярной структуры и динамики. Данный подход опробован нами при изучении гидратации всех типов биомолекул: белков, фосфолипидов, нуклеиновых кислот и сахаров. Выявлены общие характеристики гидратных оболочек биомолекул (по-видимому, любых макромолекул), которые содержат первичный сильно связанный слой воды и вторичный слой, напротив, с частично разрушенной структурой по сравнению с невозмущённой водой. Кроме того, для каждого типа биомолекул выявлены особенности гидратации [2]. Так, при изменении конформации белка происходит изменение параметров релаксации молекул воды. Фазовые переходы фосфолипидных липосом сопровождаются изменением водородного связывания молекул воды. ДНК содержит три отличные области гидратации, проявляющие кооперативные эффекты в сравнении с отдельными нуклеотидами. Для сахаров показана зависимость гидратации от ориентации ОН-групп и типа гликозидных связей. В противоположность ДНК, полисахариды проявляют антикооперативные эффекты гидратации.

Так как протяжённость динамических гидратных оболочек сопоставима со средним расстоянием между биомолекулами в живых системах, особый интерес представляет роль динамических гидратных оболочек в процессах биомолекулярного взаимодействия. Исследования в данном направлении на стыке физической химии и молекулярной биофизики представляют фундаментальную значимость.

1. Ebbinghaus S., Kim S.J., Heyden M. et al. An extended dynamical hydration shell around proteins // PNAS, 2007, vol. 104 (52), pp. 20749-20752.

2. Penkov N.V. Terahertz Spectroscopy as a Method for Investigation of Hydration Shells of Biomolecules // Biophys. Rev., 2023, vol. 15 (5), pp. 833-849.

## АНАЛИЗ ВЫСОКОДИВЕРГИРОВАННЫХ ДИСПЕРСНЫХ ПОВТОРОВ: КЛЮЧ К ПОНИМАНИЮ СТРУКТУРЫ ГЕНОМА РИСА Highly Divergent Dispersed Repeat Analysis: A Key to Understanding the Rice Genome Structure

Руденко В.М., Коротков Е.В.

Институт «Биоинженерия» ФИЦ «Биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ, [v.m.rudenko@gmail.com](mailto:v.m.rudenko@gmail.com)

На современном этапе развития методов высокопроизводительного секвенирования как никогда важна роль аннотации вновь полученных последовательностей ДНК. Всеобъемлющая аннотация геномов невозможна без определения числа и типов дисперсных повторов (ДП) в них. Однако, разработанные методы поиска ДП

определяют повторы уже известного типа, информация о которых содержится в специализированных банках данных, либо же повторы с высокой степенью гомологии. В связи с этим актуальной является задача идентификации сильнодивергированных повторяющихся последовательностей, что поможет установить древнее эволюционное родство между ними.

Разработанный нашей научной группой IP-метод для поиска ДП в отличие от сторонних методов, способен выявлять сильноразмытые ДП [1]. Это становится возможным за счет создания de novo профильной матрицы семейства ДП, которая учитывает частоты парных корреляций нуклеотидов в различных позициях повтора. Метод предполагает поиск ДП длины до 600 н.п.

С помощью метода IP мы проанализировали геном *O. sativa* [2]. Для него было построено 79 семейств ДП, включающих почти 993 тыс. повторов. Повторы разных семейств равномерно распределены по разным хромосомам. Число найденных нами ДП в 2,5 раза больше, чем удалось обнаружить ранее с использованием конвейера EDTA [3]. В целом ДП покрывают 66% генома риса. По сути это означает, что геном состоит из отдельных дискретных блоков, что может быть следствием множественных, как прямых, так и инвертированных дупликаций некоторых родительских последовательностей в ходе эволюции. При этом, такие блоки преимущественно расположены в некодирующей ДНК, но присутствуют также и в кодирующей части.

Распределение длин ДП, найденных методом IP, показало, что в геноме риса преобладают повторы с длинами от 100 до 300 н.п., также пик наблюдается в районе около 580 н.п. Если сравнивать эти результаты с ДП, найденными EDTA, то оказывается, что большая часть, найденных им повторов, находится в диапазоне длин от 100 до 300 н.п. Сильнодивергированные повторы средней длины 550-600 н.п. EDTA обнаружить не способен.

Интересным оказался тот факт, что число идентифицированных нами повторов на прямой и обратной нити ДНК очень близко, а сами повторы перекрываются. Мы исследовали корреляцию между перекрывающимися более чем на 60% длины повторами на прямой и обратной нити ДНК. Оказалось, что 17 семейств повторов демонстрируют симметрию, т.е. распознаются одновременно и на прямой, и на обратной нити ДНК.

Изучалась периодичность консенсусных последовательностей семейств ДП генома риса с длиной периода  $k$  от 2 до 150 н.п. Полученные данные позволяют заключить, что среди длин периодов доминирует длина 3 н.п. Наличие триплетной периодичности в отдельных семействах ДП может свидетельствовать о том, что повторы обладающий ей семейств либо расположены в кодирующих областях генома, либо произошли от предковой последовательности, которая была кодирующей.

Также была проведена иерархическая группировка семейств ДП. Расстояние между семействами определялось на основании выравнивания профильных матриц семейств друг относительно друга. Использовался алгоритм группировки по методу Варда. Полученная иерархия демонстрирует разделение всех семейств ДП на две большие группы.

1. Korotkov E., Suvorova Y., Kostenko D., Korotkova M. Search for Dispersed Repeats in Bacterial Genomes Using an Iterative Procedure // IJMS, 2023, vol. 24 (13), p. 10964, doi: 10.3390/IJMS241310964/S1.

2. Rudenko V., Korotkov E. Search for Dispersed Repeats in the *Oryza sativa* Genome Using the IP Method // Rice Science, 2025, doi: 10.1016/J.RSCI.2025.04.008.

3. Ou S., Su W., Liao Y., Chougule K. et al. Benchmarking transposable element annotation methods for creation of a streamlined, comprehensive pipeline // Genome Biol., 2019, vol. 20, doi: 10.1186/S13059-019-1905-Y.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ СТАБИЛИЗАЦИИ ОБЪЕМА ЭРИТРОЦИТА НА ОСНОВЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ИОННОЙ ПРОВОДИМОСТИ МЕМБРАНЫ

### Studying the Mechanisms of Erythrocyte Volume Stabilization using Mathematical Modeling

Руденко Т.В.<sup>1,2</sup>, Демкин В.П.<sup>1</sup>, Печерицын А.А.<sup>1</sup>, Удут В.В.<sup>3</sup>, Ахметова А.А.<sup>1</sup>, Смаглий Л.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Томский государственный университет, г. Томск, РФ, rudenko@ido.tsu.ru

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ

<sup>3</sup> НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск, РФ

Мембрана эритроцитов является жизненно важным элементом, определяющим их функциональную активность и длительность нахождения в кровотоке. Ее свойства обеспечивают эритроцитам сохранение дисковидной формы, возможность обратимой деформации, регуляцию газообмена, устойчивость порога проницаемости для поддержания внутриклеточного гомеостаза и объема эритроцита [1-3].

При нарушении проницаемости мембраны перестают корректно функционировать механизмы регуляции объема клетки, что приводит к снижению деформируемости мембраны и как следствие появлению патологических форм [4-8], нарушающих капиллярный кровоток и реологию крови в целом.

Таким образом, понимание механизмов, контролирующих объем эритроцита, является важным для коррекции нарушений осмотического гомеостаза.

Активно развивающимся подходом к изучению механизмов восстановления и поддержания объема клетки является математическое моделирование ионной проводимости клеточной мембраны. Проводимость мембраны зависит от количества ионных каналов и проницаемости каждого канала. Следовательно, управляя проницаемостью каналов, можно регулировать объем и форму эритроцита.

Построение математической модели транспорта ионов через мембрану эритроцита осуществлялось в соответствии с предположениями: регуляция объема зависит от комбинированной работы активных ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азы,  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых  $\text{K}^+$ -каналов,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы) и пассивных мембранных транспортеров; изменение объема клетки происходит за счет осмотических явлений; динамическими переменными являются количество ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  внутри клетки; концентрация ионов вне клетки принимается неизменной и другие. Изучалось поведение клетки при скачкообразном увеличении проницаемости катионных каналов спустя 5 секунд после начала расчета. Вычисления проводились в программе MATLAB (версия R2015b, № лицензии 851653).

При увеличении проницаемости мембраны возникает новое динамическое равновесие, при котором стабилизируются объем клетки, трансмембранный потенциал и количество ионов в клетке, что объясняется активностью  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азы.

Значение трансмембранного потенциала изменяется от -10,8 мВ до -8,9 мВ и до -4,9 мВ при изменении проницаемости мембраны в 4 и 10 раз соответственно, что связано с увеличением количества положительно заряженных ионов в клетке. Объем эритроцита возрастает на 6 % (от 87 до 92 мкм<sup>3</sup>) с увеличением проницаемости мембраны в 4 раза и на 24 % (от 87 до 108 мкм<sup>3</sup>) – при увеличении в 10 раз. Таким образом, трансмембранный потенциал и объем удерживаются в рамках физиологически допустимых значений.

После увеличения проницаемости мембраны количество ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в эритроците сначала резко возрастает, а спустя 5 секунд стабилизируется благодаря возросшей активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы. В дальнейшем происходит плавный рост количества ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , связанный с изменением трансмембранного потенциала и объема клетки. Для нормального функционирования клетки необходим жесткий контроль количества ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , что подтверждено в данной модели.

Результаты, полученные в работе, качественно согласуются с данными моделирования регуляции объема эритроцита, представленными в работе [9], что подтверждает их адекватность и участие учитываемых механизмов в регуляции клеточного объема.

Численные эксперименты по оценке влияния проницаемости ионных каналов на трансмембранный потенциал, ионную проводимость и изменение объема клетки для нормальных эритроцитов позволяют изучить механизмы восстановления и поддержания осмотического баланса и функциональности клетки.

Таким образом, модель может служить основой для изучения механизмов регуляции клеточного объема в нормальных и патологических формах клеток.

1. Боронихина Т.В., Ломановская Т.А., Яцковский А.Н. Плазмолемма эритроцитов и ее изменения в течение жизни клеток // Журнал анатомии и гистопатологии, 2021, т. 10, № 2, с. 62-72.
2. Трошкина Н.А., Циркин В.И., Дворянский С.А. Эритроцит: строение и функции его мембраны // Вятский медицинский вестник, 2007, № 2-3, с. 32-40.
3. Мороз В.В., Голубев А.М., Афанасьев А.В. и др. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях // Общая реаниматология, 2012, № 8, с. 52-60.
4. Леонова Е.В., Чантурия А.В., Висмонт Ф.И. Патологическая физиология системы крови. Мн.: БГМУ, 2005, 154 с.
5. Герасимов Л.В., Мороз В.В., Исакова А.А. Микрореологические нарушения при критических состояниях // Общая реаниматология, 2010, № 6, с. 74-78.
6. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004, 202 с.
7. Байбеков И.М., Мавлян-Ходжиев Р.Ш., Эрстекис А.Г., Москвин С.В. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях. Тверь: «Издательство Триада», 2008, 256 с.
8. Атауллаханов Ф.И., Корунова Н.О., Спиридонов И.С. и др. Как регулируется объем эритроцита, или что могут и чего не могут математические модели в биологии // Биологические мембраны, 2009, т. 26, № 3, с. 163-179.

## ВЛИЯНИЕ ЗАМОРАЖИВАНИЯ-ОТТАИВАНИЯ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕМОГЛОБИНА С БТС

### Effect of Freezing-Thawing on the Interaction Hemoglobin with BTB

Тимченко Н.Н., Шупова Е.В.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [timchenko\\_n@list.ru](mailto:timchenko_n@list.ru)

В настоящее время гемоглобин интенсивно изучается [1, 2]. Его белковая часть глобин крайне лабилен к тепловой денатурации, присоединение гема к нему значительно увеличивает его устойчивость к теплу.

Изучение спирализации гемоглобина как функции последовательного насыщения глобина гемом также показало, что при добавлении только 50% гемов к молекуле гемоглобина восстанавливается уже 75% её спиральных участков. Эти экспериментальные данные свидетельствуют о том, что присоединение гема к одной цепи глобина вызывает конформационные изменения не только в данной цепи, но также передаётся и на другие цепи, ещё не содержащие гема. Более того, эти данные указывают на то, что процесс присоединения гема к глобину не подчиняется правилу «всё или ничего», а включает образование промежуточных продуктов. Разработаны методы получения семи-гемоглобина, содержащего 2 гема на 4 полипептидные цепи гемоглобина. В семи-гемоглобине гем находится в альфа-цепях, что указывает на их большее сродство к гему. Молекула является тетрамером. Это вновь подтверждает то, что присоединение гема к 2 цепям структурирует четвертичную структуру всей молекулы гемоглобина, т.е. существует взаимодействие между парными цепями. Накоплено много экспериментальных данных о неэквивалентности альфа- и бета-цепей молекулы гемоглобина (различие функциональных характеристик, сродства к гему величин окислительно-восстановительного потенциала и т.д.), а также об их различном значении для нормального строения и функционирования молекулы гемоглобина. Убедительным примером этого является сравнение свойств 4 аномальных гемоглобинов группы М, в молекулах которых проксимальные или дистальные гистидины заменены на тирозины. Аномальные цепи этих белков находятся в окисленной форме и не комбинируются с кислородом *in vivo* и *in vitro*. Так как существует большое сходство в строении альфа- и бета-цепей вблизи группы гема, можно было ожидать, что у двух проксимальных и двух дистальных мутантов окажутся близкие свойства. В действительности же эти мутанты одной цепи похожи по свойствам и отличаются от таковых в другой цепи. Гемоглобин Iwate и гемоглобин Boston, в которых с кислородом реагируют нормальные бета-цепи, характеризуются низким сродством, эффект Бора и кооперативность связывания кислорода отсутствуют. Если гемы аномальных альфа-цепей восстановить дитионином, то они приобретают способность присоединять СО (в присутствии кислорода они сразу окисляются). При этом оказывается, что сродство и эффект Бора восстанавливаются. Следовательно, аномальность альфа-цепей влияет на нормальные бета-цепи, лишая их способности нормально функционировать. При восстановлении аномальных альфа-цепей с последующим присоединением СО бета-цепи освобождаются от влияния альфа-цепей. Обратная картина наблюдается в случае гемоглобина Hyde Park и гемоглобина Saskatoon. В молекулах этих белков нормально работают альфа-цепи и они имеют аналогичные альфа-цепям гемоглобина А эффект Бора и сродство. Более того, восстановление всех гемов даже в присутствии кислорода приводит к появлению спектра гемоглобина А. Это указывает на то, что гемы аномальных бета-цепей способны восстанавливаться и оксигенироваться, хотя устойчивость оксигенированной формы невелика. Получены и кинетические доказательства распространения конформационных изменений от альфа-субъединиц к бета-субъединицам. Следовательно, альфа-цепи оказывают существенное влияние на бета-цепи, но не наоборот, и их сохранность более существенна для нормального функционирования молекулы гемоглобина. Несмотря на хорошую изученность гемоглобина его продолжают изучать. Одним из методов изучения распределения по белковой макромолекуле полярных и неполярных групп является взаимодействие органических красителей с белками. Связывание бромтимолового синего (БТС) гемоглобином приводит к уменьшению интенсивности спектра поглощения при 615 нм. Определяли параметры связывания красителя оксигемоглобином до и после замораживания-оттаивания. Концентрация свободного БТС в растворе больше при связывании БТС гемоглобином после замораживания, чем до замораживания. Число участков сорбции БТС гемоглобином после замораживания оказалось меньше, чем до замораживания. Так как связывание анионного красителя с белком при  $\text{pH} \geq \text{pI}$  осуществляется посредством гидрофобных взаимодействий, то меньшее сорбирование БТС на поверхности молекулы гемоглобина после замораживания по сравнению с до замораживанием при  $\text{pH}$  7,2 говорит о том, что доступная красителю гидрофобная поверхность молекулы гемоглобина меньше после замораживания, чем гидрофобная поверхность гемоглобина до замораживания. После замораживания число гидрофобных центров сорбции БТС молекулой гемоглобина, доступных этому красителю, меньше. Таким образом, именно в отношении доступных центров связывания БТС на поверхности молекулы гемоглобина сделан нами вывод о том, что доступная гидрофобная поверхность гемоглобина меньше после замораживания, чем гидрофобная поверхность гемоглобина до замораживания.

1. Webb K.L., Dominelli P.B. Influence of high hemoglobin-oxygen affinity on human during hypoxia // *Front. Physiol.* 2022, doi: 10.3389/fphys.2021.763933.
2. Bazi A., Khanahmad A. Long-term and transient calcium channel blockers // *Hemoglobin*, 2025, vol. 49, no. 2, pp. 111-125.

**КАРТОГРАФИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ ДОМЕНА ХОЛОДОВОГО ШОКА:  
ЧАСТЬ 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕДИНОГО КОНФОРМАЦИОННОГО ПРОСТРАНСТВА ДЛЯ  
CSD-ГОМОЛОГОВ ИЗ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП**  
**Cold Shock Domain Surface Mapping: Part 1. A Uniform Conformational Space Defining for CSD-Homologs  
from Different Taxonomic Groups**

**Филиппов С.В.**

ИМПБ РАН – филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, г. Пущино, РФ, *fsv141@mail.ru*

Домен холодового шока (CSD) являет собой одну из самых удивительных белковых молекул, обнаруживаемых у представителей самых разных таксономических групп [1]. У прокариот белки холодового шока практически всегда состоят только из CSD (точнее, CSP – Cold Shock Protein), а у эукариот имеют в своем составе ещё и дополнительные неупорядоченные домены, повышающие их полифункциональность. По сути, в лице CSP/CSD-белков мы имеем дело с унифицированной «деталью», используемой всеми клеточными организмами, которая вовлечена практически во все ДНК- и мРНК-зависимые процессы в клетке. Соответственно, из данного обстоятельства произрастает и особая важность исследования структуры и свойств вышеуказанных белков. В особенности это касается YB-1, поскольку он участвует в онкотрансформации клеток, метастазировании опухолей, в воспалительных процессах и процессах, связанных с вирусной инфекцией [2].

В рамках решения задач по исследованию взаимосвязей между структурой и функциями CSD-белков, было принято решение проанализировать особенности топологии их поверхностей с целью выявить те закономерности пространственной организации этого класса макромолекул, которые в настоящий момент не раскрыты.

Для исследования было отобрано 23 CSD/CSP-белка прокариот и эукариот, трёхмерная структура которых была получена при помощи ЯМР и рентгеноструктурного анализа. Методом исследования был выбран визуально-дифференциальный анализ, пригодный для анализа молекулярных структур с высокой степенью гомологии [3]. В основе этого метода лежит построение гипсометрических карт поверхностей макромолекул, поэтому самым первым и ключевым этапом его реализации является приведение всех отобранных структур к единому конформационному пространству на получаемых гипсометрических картах. Этого можно достичь при помощи единообразной ориентации проекционной поверхности посредством трёх «опорных атомов», локализованных в наиболее консервативных из всех гомологичных участков белковых молекул – таких, которые имелись бы у всего ряда выбранных нами CSP/CSD и которые смогли бы однозначно и, самое главное, единообразно сориентировать проекционную поверхность [4]. Выравнивание исходных белковых последовательностей выполнялось в on-line версии T-COFFEE [5]. Для поиска же подходящих гомологичных участков была написана программа на языке Python. Из предложенных ею вариантов, три гомологичных последовательности отбирались уже визуально – на нескольких 3D-моделях, построенных программой PDBImp for VDA [6] по критерию максимально возможной равноудалённости «опорных атомов», что, в свою очередь, призвано «нормализовать» различия в ориентации проекционных поверхностей для каждой из 23-х отобранных структур, обусловленных различиями в геометрии пусть и гомологичных, но при этом очень разных макромолекул.

Результатом данной работы стал список номеров трёх опорных  $\beta$ -атомов углерода фенилаланина, входящего в состав каждой из трёх высококонсервативных гомологичных последовательностей (LYS-TRP-PHE-ASN, ASP-VAL-PHE-VAL-HIS, PHE). Центры этих атомов будут использованы в качестве «реперных точек» – основного параметра программы Proj-Mol-Geom-Builder [7], генерирующей сориентированную проекционную поверхность, которая, в свою очередь и обеспечит единство конформационного пространства на получаемых гипсометрических картах поверхности всех 23-х молекулярных структур отобранных нами CSP/CSD-белков.

1. Будкина К.С., Злобин Н.Е., Кононова С.В. и др. Белки с доменом холодового шока: структура и взаимодействие с нуклеиновыми кислотами // Успехи биологической химии, 2020, т. 60, с. 3-42.

2. Елисеева И.А., Ким Е.Р., Гурьянов С.Г. и др. Y-бокс-связывающий белок 1 (YB-1) и его функции // Успехи биологической химии, 2011, т. 51, с. 65-132.

3. Филиппов С.В. Визуально-дифференциальный анализ (био-)макромолекул: методы исследования молекулярных структур с высокой степенью гомологии // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2024, т. 9, № 4, с. 311-319.

4. Филиппов С.В., Полозов Р.В., Сивожелезов В.С. Визуализация пространственных структур (био-)макромолекул в виде подобных гипсометрическим карт // Препринты ИПМ им. М.В.Келдыша, 2019, № 61, 14 с., doi:10.20948/prepr-2019-61, URL: <http://library.keldysh.ru/preprint.asp?id=2019-61>.

5. T-Coffee is a multiple sequence alignment package. [Электронный ресурс]. URL: <https://tcoffee.crg.eu> (дата обращения: 17.07.2025).

6. PDBImp for VDA: Гос.регистрация программы для ЭВМ, регистрационный № 2024610662 от 12.01.2024 <https://fips.ru/EGD/64e61544-66d3-45dc-a97a-78df9a3b0f63>.

7. Proj-Mol-Geom-Builder: Гос.регистрация программы для ЭВМ, регистрационный № 2025610866 от 15.01.2025 <https://fips.ru/EGD/3c2db3bb-b5c2-4a14-abac-069075a3c003>.

## Amino Acid and Conformational Patterns of Structural Motifs $\beta$ -Proteins

Институт белка РАН, г. Пущино, РФ, *boshkova.e.a@rambler.ru*

Модуль «β-тяж-арка-β-тяж» состоит из двух лежащих в разных слоях ортогонально β-тяжей и линкера между ними. По-видимому, структура переходной дуги между β-слоями определяет способ встраивания β-тяжей в структуру домена – последовательно или с пропуском (табл. 1). При этом пропуск заполнен β-шпилькой или β-тяжем, приходящим из другого участка домена или другой цепи.



5. Процесс иммобилизации следует осуществлять при температуре 4°C.

6. Для предотвращения образования несвязанного фермента на заключительном этапе обработки образца следует проводить диализ против 0,05 М трис-НСl буфера, рН 7,5, с использованием целлофановой мембраны с размером пор 25 кДа.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект 25-74-20024*

1. Олышанникова С.С., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Разработка методики ковалентной иммобилизации папаина с использованием глутарового альдегида // *Биофармацевтический журнал*, 2021, т. 13, № 6, с. 3-7.

2. Холявка М.Г., Олышанникова С.С., Артюхов В.Г. Способ получения препарата полибромелайна с применением глутарового альдегида // Патент на изобретение № 2711790 РФ. Заявл. 26.12.2018. Оpubл. 22.01.2020. Срок действия 26.12.2038.

3. Холявка М.Г., Олышанникова С.С., Артюхов В.Г. Способ получения гетерогенного препарата бромелайна, ковалентно связанного с матрицей хитозана // Патент на изобретение № 2711786 РФ. Заявл. 26.12.2018. Оpubл. 22.01.2020.

4. Holiavka M.G., Goncharova S.S., Artyukhov V.G. Various Options for Covalent Immobilization of Cysteine Proteases – Ficin, Papain, Bromelain // *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, vol. 26, p. 547.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ СТРУКТУРНОГО МОТИВА $\alpha$ -СПИРАЛЬНОЙ ШПИЛЬКИ В СОСТАВЕ БЕЛКА S16 ИЗ *THERMUS thermophilus* Molecular Dynamics of the Structural Motif $\alpha$ -Helical Hairpin Inside the Protein S16 from *Thermus thermophilus*

Чиргадзе Ю.Н.<sup>1</sup>, Бражников Е.В.<sup>1</sup>, Лихачев И.В.<sup>2</sup>, Балабаев Н.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт белка РАН, г. Пущино, РФ

<sup>2</sup> Институт математических проблем биологии РАН – филиал Института прикладной математики имени М.В. Келдыша РАН, г. Пущино, РФ, [tefg@vega.protres.ru](mailto:tefg@vega.protres.ru)

$\alpha$ -Спиральная шпилька является одним из распространённых уникальных структурных мотивов, которые встречаются в молекулах глобулярных белков. Нативное состояние белков реализуется в водных растворах. При этих условиях структурное поведение, а также и функции белков определяются их динамическими свойствами. Ранее мы исследовали динамику  $\alpha$ -спиральных фрагментов в водных растворах полиглутаминовой кислоты и некоторых белков [1-5]. В данной работе мы представляем молекулярную динамику структурного мотива  $\alpha$ -спиральной шпильки в составе рибосомного белка S16 из *Thermus thermophilus*. Была изучена динамика только основной полипептидной цепи из  $\text{Ca}$ -атомов для четырёх независимых траекторий с общим временем 140 наносекунд. Показано наличие постоянных флуктуаций всех структурных участков белка. Подвижность этих участков обусловлена структурой участка, а также его положением в молекуле. Было обнаружено ограничение подвижности  $\text{Ca}$ -атомов для гидрофобных остатков полипептидной цепи. На рисунке 1 представлен динамический профиль предсказанного (красные отрезки) и наблюдаемого (синие отрезки) смещений  $\text{Ca}$ -атомов  $\alpha$ -спиральной шпильки в интервале времени 10-11 наносекунд для одной из траекторий.

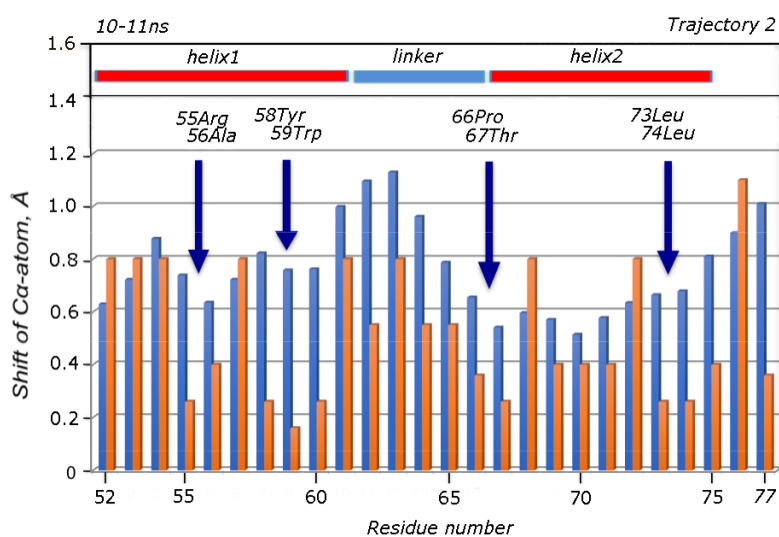


Рисунок 1. Смещения  $\text{Ca}$ -атомов полипептидной цепи в области  $\alpha$ -спиральной шпильки в составе рибосомного белка S16 из *Thermus thermophilus*

*Авторы благодарят Суперкомпьютерный Центр коллективного пользования Института прикладной математики имени М.В. Келдыша РАН за возможность проводить вычислительные эксперименты на суперкомпьютере K60-GPU.*

1. Chirgadze Y.N., Battaile K.P., Likhachev I.V. et al. Signal transfer in human protein tyrosine phosphatase PTP1B from allosteric inhibitor P00058 // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2022, vol. 40, pp. 13823-13832, doi: 10.1080/07391102.2021.1994879.

2. Chirgadze Y.N., Likhachev I.V., Balabaev N.K., Brazhnikov E.V. Molecular dynamics of  $\alpha$ -helical structure: poly-L-glutamic acid // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2023, vol. 41, no 23, pp. 13718-13723, doi: 10.1080/07391102.2023.2183039.

3. Chirgadze Y.N., Likhachev I.V., Balabaev N.K., Brazhnikov E.V. Molecular dynamics of  $\alpha$ -helical structure: poly-L-glutamic acid in water solution // *Biophys. Rev.*, 2023, vol. 15, pp. 1425–1861, doi: 10.1007/s12551-023-01150-w.

4. Chirgadze Y.N., Likhachev I.V., Balabaev N.K., Brazhnikov E.V. Molecular dynamics of  $\alpha$ -helix inside protein with single helix // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2024, doi: 10.1080/07391102.2024.2308755.

5. Chirgadze Y.N., Likhachev I.V., Balabaev N.K., Brazhnikov E.V. Molecular dynamics of three different  $\alpha$ -helices in ribosomal protein L25 from *Escherichia coli* // *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2024, vol. 40, 1-5, doi: 10.1016/j.bbrep.2024.101836.

## СВЯЗЬ МЕЖДУ ХИРАЛЬНОСТЬЮ И ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬЮ ФЕРМЕНТА ЛИЗОЦИМА

### Relation Between Chirality and Thermostability of the Enzyme Lysozyme

Шпигун Д.К., Левашов П.А., Сидорова А.Э.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ,  
denish.den@mail.ru, levashov@yahoo.com, sky314bone@mail.ru

В настоящее время имеются все основания считать, что хиральность вторичных белковых структур проявляется при взаимодействиях биомакромолекул и может кардинальным образом влиять на свойства биомолекул, в том числе на стабильность структуры. В качестве объекта исследования взаимосвязи между хиральностью и термостабильностью был выбран белок лизоцим поскольку он играет важную роль в защите организма от патогенных микроорганизмов, обладает иммуномодулирующим, антигистаминным и противоопухолевым свойствами [1]. Глобулярная структура лизоцима включает два домена, образующих щель, в которой активный центр данного фермента связывает молекулу пептидогликана между двумя доменами, состоящими из  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -слоев. Лизоцим содержится в слюне, слезах, молоке млекопитающих, плазме крови, лимфатических тканях. Известны три основных типа лизоцимов: с-тип (куриный), г-тип (гусиный) и i-тип (беспозвоночный). Лизоцим также применяется в пищевой промышленности, благодаря способности сохранять высокую активность при температурах до 60°C в широком диапазоне pH (от 2 до 10) [2]. Особый интерес представляет установление взаимосвязи между хиральностью белков и их термической стабильностью.

В работе была изучена структура лизоцимов различных организмов: ехидны, курицы, верблюда, утки, человека, быка, шелкопряда, индейки и 2 лизоцима домового мыши (лизоцим и лизоцимоподобный белок). С использованием ранее разработанного метода оценки знака и степени хиральности вторичных структур белков [3, 4] построены карты хиральности вторичных спиральных структур для лизоцимов изученных организмов. Обнаружено, что структуры лизоцимов отличаются по количеству  $3_{10}$ -спиралей, при этом число  $\alpha$ -спиралей одинаково во всех рассматриваемых организмах. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что в лизоциме шелкопряда среднее значение степени хиральности  $\alpha$ -спиралей имеет наибольшее значение несмотря на то, что он содержит наименьшее количество аминокислот среди рассматриваемых организмов. Количество  $\alpha$ -спиралей и  $3_{10}$ -спиралей в структуре лизоцимов курицы и человека практически совпадают, но наблюдаются значительные различия в средних значениях степени хиральности и средних длинах вторичных структур для данных организмов. Это может быть связано с тем, что в лизоциме человека находится больше нерегулярных структур, основная функция которых – связывать регулярные структуры. Отмечено отличие в средних значениях степени хиральности  $\alpha$ -спиралей в лизоцимах домового мыши, что может быть обусловлено различием в выполняемых функциях.

Проанализирован аминокислотный состав рассматриваемых структур, позволяющий идентифицировать аминокислоты, влияющие на стабильность и хиральность рассматриваемых структур. Показано, что в рассматриваемых лизоцимах наблюдаются различия в доле отдельных аминокислот в зависимости от изучаемого организма.

Исследована температура денатурации лизоцимов различных организмов. Показано, что многих лизоцимах температура плавления увеличивается вместе с ростом степени хиральности отдельных вторичных спиральных структур. Это может свидетельствовать о наличии взаимосвязи между хиральностью вторичных структур лизоцима и его термостабильностью. Тем не менее, данный вопрос требует более глубокого изучения.

Хиральность аминокислот влияет на пространственную структуру белков, определяя их устойчивость к денатурации, что критически важно для разработки термостабильных ферментов, лекарственных препаратов и биоматериалов. Понимание этих механизмов позволяет создавать модифицированные белки с улучшенными свойствами, а также изучать патологические процессы, связанные с нарушением сворачивания белков.

1. Levashov P.A., Matolygina D.A., Ovchinnikova E.D. et al. The bacteriolytic activity of native and covalently immobilized lysozyme against Gram-positive and Gram-negative bacteria is differentially affected by charged amino acids and glycine // *FEBS Open Bio*, 2019.

2. Alhazmi A., Stevenson J.W., Amartei S. et al. Discovery, modification and production of T4 lysozyme for industrial and medical uses // *International Journal of Biology*, 2014, vol. 6, pp. 45-63.

3. Sidorova A.E., Malysheva E.V., Lutsenko A.O. et al. Protein helical structures: defining handedness and localization features // *Symmetry*, 2021, vol. 13, no. 5, p. 879.

4. Сидорова А.Э., Луценко А.О., Шпигун Д.К. и др. Методы определения знака хиральности спиральных и суперспиральных структур белков // *Биофизика*, 2021, т. 66, № 3, с. 421-428.

### ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНАЯ ФЕМТОСЕКУНДНАЯ КОНВЕРСИЯ ЭНЕРГИИ В ХЛОРОСОМАХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ *CHLOROFLEXUS AURANTIACUS* Intramolecular Femtosecond Energy Conversion in the Chlorosomes of Photosynthetic Bacteria *Chloroflexus Aurantiacus*

Яковлев А.Г., Таисова А.С.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ, [taisova@belozersky.msu.ru](mailto:taisova@belozersky.msu.ru)

В зеленых бактериях *Chloroflexus aurantiacus* процесс фотосинтеза начинается с поглощения света уникальными светособирающими комплексами – хлоросомами, которые состоят из  $\sim 10^4$  молекул бактериохлорофилла (БХл) *c*, объединенных в сложные пространственные структуры. Хлоросомы имеют форму эллипсоидов с размерами в несколько десятков нанометров и прикрепляются к внутренней стороне клеточной мембраны с помощью базовой пластинки (БХл) *a*. Типичный спектр поглощения хлоросом содержит две широкие полосы (рис.1). Самая интенсивная полоса находится в красной области спектра (700-770 нм) и принадлежит переходу  $Q_y$  БХл *c*. В синей области (400-500 нм) находится полоса В (полоса Core), которая представляет собой сложный конгломерат полос  $B_x$  и  $B_y$ . Наличие двух спектральных полос расширяет возможности зеленых бактерий улавливать солнечный свет. При поглощении синего света ( $\sim 460$  нм) полосой В хлоросом происходит сверхбыстрая конверсия энергии, в результате чего возбуждается красная полоса  $Q_y$  ( $\sim 740$  нм) (рис. 1).

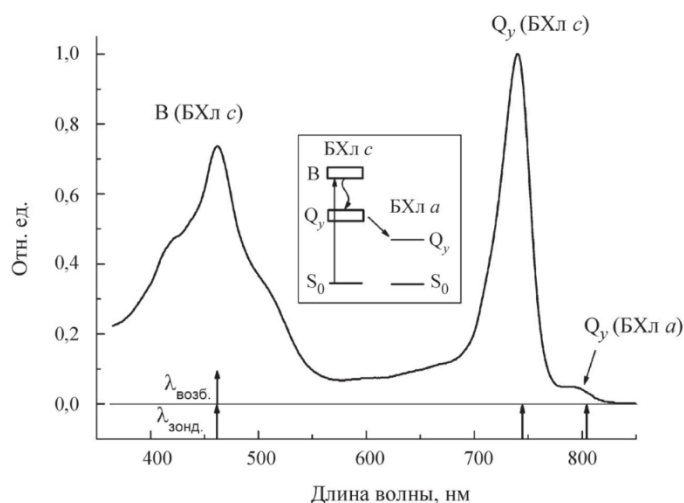


Рисунок 1. Спектр поглощения хлоросом зеленых бактерий *C. aurantiacus*. Вертикальными стрелками показаны длины волн возбуждения и зондирования при измерении кинетик  $\Delta A$ . На вставке – схема уровней энергии БХл *c* и *a* хлоросомы и базовой пластинки, соответственно. Вертикальной стрелкой показано возбуждение полосы В БХл *c*. Волнистой стрелкой показана конверсия энергии  $B \rightarrow Q_y$  в БХл *c*, наклонной стрелкой показан перенос энергии  $BChl\ c \rightarrow BChl\ a$

С помощью дифференциальной спектроскопии сверхвысокого временного разрешения (20 фс) исследована конверсия энергии возбуждения  $B \rightarrow Q_y$  в агрегатах БХл *c* хлоросом *C. aurantiacus*. Анализ кинетик  $\Delta A$  (свет минус темнота) показал, что константа времени конверсии энергии  $B \rightarrow Q_y$  составляет 35 фс. Показано, что

конверсия энергии предшествует более медленным процессам экситонной релаксации в полосе  $Q_y$  (100-300 фс после возбуждения) и переносу энергии из хлоросомы в базовую пластинку и далее в реакционный центр (десятки пс). Теоретическое моделирование показало, что последовательная схема  $B \rightarrow Q_y \rightarrow BXL$  хорошо объясняет экспериментальные данные.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова, 124031100089-5.*

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМАТИНА В ЯДРАХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ НЕЙТРОНОВ И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Study of Organisation of the Chromatin in Nuclei of Cancer Cells by Small Angle Neutron and X-Ray Scattering

Яшина Е.Г.<sup>1,2</sup>, Варфоломеева Е.Ю.<sup>2</sup>, Пантина Р.А.<sup>2</sup>, Ковалев Р.А.<sup>2</sup>, Федорова Н.Д.<sup>2</sup>, Горшкова Ю.Е.<sup>3</sup>,  
Григорьев С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ

<sup>2</sup> Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова НИЦ Курчатовский институт,  
г. Санкт-Петербург, РФ

<sup>3</sup> Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, [iashina\\_eg@npni.nrcki.ru](mailto:iashina_eg@npni.nrcki.ru)

Одним из наиболее информативных и востребованных методов определения структуры неупорядоченных биологических объектов является метод малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН) и рентгеновского излучения (МУРР). Исследования крупномасштабной организации хроматина с помощью ультра малоугловых техник нейтронного рассеяния, таких как Спин-Эхо МУРН и Ультра МУРН, демонстрируют наличие структуры логарифмического фрактала в ядрах нормальных и опухолевых клеток [1-6]. В классическом малоугловом рассеянии структура логарифмического фрактала наблюдается как кубический закон рассеяния зависимости от модуля переданного импульса ( $I \sim Q^{-3}$ ) [1-4], а в Спин-Эхо малоугловом рассеянии структура логарифмического фрактала наблюдается как экспоненциальная Спин-Эхо корреляционная функция ( $G = \exp(-z/\xi)$ ) [4-6]. В ядрах нормальных клеток, таких как лимфоциты крысы структура логарифмического фрактала наблюдается в диапазоне масштабов от 3,7 мкм до 60-30 нм [1,6], в то время, как в ядрах опухолевых клеток, таких как HeLa – от 5,1 мкм до 200 нм [2,5].

Стоит отметить, что структура логарифмического фрактала является универсальной для большинства типов ядер и образуется из системы полостей, которые формируют систему транспортных каналов, необходимую для метаболизма и инфраструктуры внутри ядра, а также формирует собой пространство потенциально необходимое для осуществления биологических функций ДНК.

Эксперименты по МУРН и МУРР на ядрах опухолевых клеток HeLa демонстрируют наличие объемно-фрактальной структуры в диапазоне масштабов от 200 нм до 30 нм и фрактальной размерностью  $DF$  близкой к 2,5 [3]. В то время как эксперименты по МУРР на ядрах опухолевых клеток HeLa с подавленной транскрипционной активностью двумя разными способами (культивирование в условиях дефицита питательной среды и культивирование с добавлением ингибитора транскрипции актиномицина Д), демонстрируют отсутствие объемно-фрактальной структуры, при этом наблюдается наличие 20-30 нанометровых петель нуклеосомной фибриллы. Результаты этих экспериментов иллюстрируют связь наличия объемно-фрактальных структур в ядре с высокой транскрипционной активностью хроматина, характерной для опухолевых клеток. Также эта гипотеза подтверждается исследованиями структуры хроматина в ядрах нормальных клетках и их раковых аналогов с помощью метода МУРР. Эксперименты проводилось на установке малоуглового рассеяния рентгеновского излучения Хепох 3.0 (ОИЯИ, Дубна, Россия) на ядрах лимфоцитов крысы (низкая транскрипция) и ядрах раковых клеток лимфоцитов NC-37 (высокая транскрипционная активность), а также на ядрах нейтрофилов свиньи (низкая транскрипция) и ядрах раковых лейкоцитов клеточной линии K562 (высокая транскрипционная активность) и в обоих случаях продемонстрировали наличие объемно-фрактальной структуры размером порядка 100 nm и с фрактальной размерностью  $D$  близкой к 2.6 в ядрах опухолевых клеток, и ее отсутствие в ядрах нормальных клеток.

Таким образом, высокая транскрипционная активность хроматина, характерная для опухолевых клеток связана с наличием объемно-фрактальной структуры в ядре, а метод малоуглового рассеяния нейтронов и рентгеновского излучения является хорошим инструментом для исследования структурных особенностей хроматина в опухолевых клетках, а также различных изменений в хроматине под воздействием веществ, влияющих на активность генов на эпигенетическом уровне.

1. Iashina E.G., Varfolomeeva E.Yu., Pantina R.A. et al. // Physical Review E, 2021, vol. 104 (6), 064409.
2. Grigoriev S.V., Iashina E.G., Wu B. et al. // Physical Review E, 2021, vol. 104 (4), 044404.
3. Яшина Е.Г., Варфоломеева Е.Ю., Пантина Р.А. и др. // Письма в ЖЭТФ, 2023, т. 118 (10), с. 776-781.
4. Iashina E.G., Velichko E.V., Filatov M.V. et al. // Physical Review E, 2017, vol. 96 (1), 012411.
5. Iashina E.G., Filatov M.V., Pantina R.A. et al. // Journal of Applied Crystallography, 2019, vol. 52 (4), pp. 844-853.
6. Iashina E.G., Bouwman W.G., Duif C.P. et al. // Journal of Applied Crystallography, 2023, vol. 56 (5), pp. 1512-1521.

### СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

#### МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ МЫШЕЙ, ПОДВЕРГНУТЫХ ЛОКАЛЬНОМУ ОБЛУЧЕНИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА *Mitochondrial DNA as a Possible Agent Causing the “Bystander Effect” in vivo after Radiation Exposure*

Абдуллаев С.А., Душенко М.В., Фомина Д.В.

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ  
*saabdullaev@gmail.com*

На сегодняшний день в радиобиологии главенствует следующая парадигма: биологические эффекты в облученных клетках возникают при прямом попадании в эти клетки пучков частиц, несущих энергию и повреждающих внутриклеточные структуры, главным образом ДНК. Однако к настоящему моменту это представление ставится под сомнение, в том числе и потому что существуют так называемые «немишенные эффекты», проявляющиеся в клетках, которые не были облучены напрямую. Такие явления получили прочно закрепившееся название «эффект свидетеля» (англ. Bystander effect). В настоящий момент известно уже многое о механизмах передачи и развития этого эффекта. Однако большинство исследователей изучают данный эффект *in vitro*, в то время как на уровне целого организма «эффект свидетеля» изучен слабо. Важность такого рода исследований обусловлена необходимостью оценки риска последствий радиационного воздействия и разработки более эффективных методов радиотерапии.

Мы полагаем, что фактором, индуцирующим «эффект свидетеля» может быть внеклеточная митохондриальная ДНК (мтДНК), которая, как было показано нами, выходит при облучении из клеток в межклеточное пространство, кровяное русло и мочу [1-5].

В силу своего бактериального происхождения, митохондрии имеют ряд ключевых особенностей, отличающих их от остальных органелл клетки. В частности, показано, что митохондрии, вышедшие в кровяное русло, вызывают в организме воспалительный процесс, очень похожий на воспаление при бактериальной инфекции. Однако имеющихся в литературе данных недостаточно для точного заключения о роли митохондрий и мтДНК в развитии «эффекта свидетеля».

В связи с этим целью настоящей работы является определение изменений в мтДНК на уровне целого организма (*in vivo*), после локального воздействия рентгеновского излучения. В данной работе были использованы следующие параметры: измерение копийности мтДНК в клетках тканей, а также измерение уровня экспрессии митохондриальных генов.

Работа проводилась на лабораторных мышах линии *BALB/c* из питомника института теоретической и экспериментальной биофизики РАН. Только на головы мышей было направлено ионизирующее излучение в дозе 5 Гр (мощность 2,5 Гр/мин). Туловища были защищены от воздействия рентгеновского излучения свинцовым экраном толщиной 5 см. Для того, чтобы животные во время облучения не перемещались, мышам вводили внутримышечно препарат «Домитор» в дозировке 0,06 мг/кг массы тела. Его действующее вещество – медетомидин –  $\alpha_2$ -агонист, основной эффект которого заключается в торможении передачи нервных импульсов в адренергических синапсах за счет конкуренции с норадреналином. Под действием препарата животное теряет способность к перемещению, за счет расслабления мускулатуры. После облучения, животным внутримышечно вводился препарат «Антиседан» в дозировке 0,06 мг/кг, нейтрализующий действие медетомидина. Контрольные животные не подвергались облучению, но при этом им вводились оба вышеперечисленных препарата в той же последовательности и дозировке, что и подопытным животным.

Извлеченные из животных ткани гомогенизировались на льду, после чего масса гомогената разделялась на две части, для выделения ДНК и РНК, соответственно. Кровь собиралась отдельно, после чего ядросодержащие клетки крови разделялись на фракции гранулоцитов и моноцитов методом дифференциального центрифугирования. Оценка числа копий мтДНК и экспрессии митохондриального гена *ATP6*, проводилась методом ПЦР в реальном времени, с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов, а результаты рассчитывались относительно ядерной ДНК, с использованием в качестве внутреннего контроля однокопийного ядерного гена *GAPDH*.

Нами были получены данные об изменении копийности мтДНК в моноцитах и гранулоцитах крови, а также в клетках головного мозга, сердца, печени и селезенки мышей, подвергшихся облучению головного мозга в дозе 5 Гр.

Результаты показали, что в моноцитах крови мышей, подвергнутых облучению головного мозга в дозе 5 Гр, количество транскриптов митохондриального гена *ATP6* в 2-3 раза превышало контрольный уровень (от 3 до 14 суток с момента облучения). Максимальное относительное количество транскриптов гена *ATP6* наблюдалось на 3 сутки с момента облучения. Однако через 21 и 30 дней, относительное количество транскриптов гена *ATP6* снижалось ниже контрольного.

В другой фракции ядродержащих клеток крови – гранулоцитов, также наблюдалось увеличение относительного количества транскриптов гена *ATP6*, однако гораздо более выраженное. Уже через 24 часа с момента облучения, относительное число копий митохондриального гена *ATP6*, было выше контрольного в 12 раз. Максимальное значение этого параметра наблюдалось на 14 сутки с момента облучения, и в этот момент превышало контрольный уровень в 25 раз. Через 21 день относительное количество транскриптов гена *ATP6* снижалось до контрольного уровня, а через 30 дней опускалось ниже контрольного.

Вместе с тем, относительное количество копий мтДНК как в моноцитах, так и в гранулоцитах, через 24 часа с момента облучения, понижалось, становясь примерно в 2-3 раза ниже контрольного уровня. Сниженное количество копий мтДНК сохранялось в ядродержащих клетках крови на протяжении 14 дней с момента облучения, на 21 и 30 день восстанавливалось до контрольного уровня.

В клетках головного мозга мышей через 72 часа после облучения в дозе 5 Гр среднее число транскриптов митохондриального гена *ATP6*, содержащихся в одной клетке, увеличивалось в 2,5 раза относительно контрольных значений. Далее относительное число митохондриальных транскриптов снижалось, возвращаясь к контрольному уровню через 20 дней с момента облучения.

Проводились анализы относительного изменения копийности транскриптов митохондриального гена *ATP6* в клетках печени, сердца и селезенки у мышей, подвергшихся дифференцированному облучению головного мозга в дозе 5 Гр. Несмотря на то, что эти органы не подвергались непосредственному воздействию рентгеновского излучения, транскрипция митохондриальной ДНК в них увеличивалась также, как и в подвергавшемся облучению головном мозге. Существовали небольшие различия между различными тканями (например, в сердце максимальное относительное число транскриптов гена *ATP6* приходилось на 7 сутки, тогда как в головном мозге, печени и селезенке максимум приходился на 72 часа с момента облучения), однако общая направленность наблюдаемого процесса не вызывала сомнений. Также общим для всех исследованных тканей являлось то, что к 30 суткам с момента облучения относительное число транскриптов митохондриального гена *ATP6* возвращалось к контрольному значению. Для наглядности, результаты относительного изменения количества транскриптов митохондриального гена *ATP6* в исследованных тканях после локального облучения головы мышей, сводились вместе.

Далее были получены результаты количественного измерения относительного числа копий мтДНК в клетках мозга, подвергшихся непосредственному воздействию рентгеновского излучения. Данные этих анализов показали, что количество копий мтДНК через 24 часа после облучения увеличивалось в 10 раз, по сравнению с контролем. Однако позже количество копий мтДНК резко снижалось, примерно в 3-4 раза ниже контрольного значения, вплоть до окончания наблюдений через 30 суток. В сердце и печени такого эффекта не наблюдалось, число копий мтДНК в их клетках увеличивается. Максимальное количество мтДНК в клетках печени наблюдалось через 21 день с момента облучения, при этом оно превышало контрольный уровень в 10 раз. В сердце максимальное количество мтДНК наблюдалось через 14 дней с момента облучения, количество копий мтДНК превышало контрольный уровень в 14 раз. Через 30 дней после облучения, количество копий мтДНК в сердце и печени мышей возвращалось к контрольному уровню.

Таким образом, полученные результаты говорят о том, что даже в клетках органов мышей, не подвергавшихся непосредственному воздействию рентгеновского излучения, наблюдаются значительные изменения копийности как самой мтДНК, так и относительного числа транскриптов ее гена – *ATP6*. Эти изменения сохраняются на протяжении значительного срока после облучения, вплоть до трех недель, что позволяет говорить о том, что наблюдаемые изменения обусловлены возникновением «эффекта свидетеля», возникшего после локального облучения головного мозга рентгеновским излучением в дозе 5 Гр.

*Исследования выполнены при поддержке РНФ (проект № 24-24-00446).*

1. Абдуллаев С.А. Мутантные копии митохондриальной ДНК в тканях и в плазме мышей, подвергнутых воздействию рентгеновским излучением / С.А. Абдуллаев, Е.С. Анищенко, А.И. Газиев // Радиационная биология. Радиоэкология, 2010, т. 50, № 3, с. 318-328.

2. Mutant copies of mitochondrial DNA in tissues and plasma of mice subjected to X-ray irradiation / S.A. Abdullaev [et al.] // Biophysics, 2010, vol. 55 (5), pp. 840-847.

3. Cell-free DNA in the urine of rats exposed to ionizing radiation / S.A. Abdullaev [et al.] // Radiation and Environmental Biophysics, 2015, vol. 54, pp. 297-304.

4. X-rays and metformin cause increased urinary excretion of cell-free nuclear and mitochondrial DNA in aged rats / A. Gaziev [et al.] // Journal of Circulating Biomarkers, 2016, vol. 3, pp. 1-8.

5. Metformin prolongs survival rate in mice and causes increased urinary excretion of cell-free DNA in X-irradiated rats / S. Abdullaev [et al.] // Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2018, vol. 831, pp. 13-18.

## СТАТОКИНЕЗИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ «СТОЛБОВОГО» СОСТОЯНИЯ Statokinesimetric Study of the «Column» State

Антипин Е.Л.

Национальный исследовательский университет Московский энергетический институт, г. Москва, РФ,  
*rivers@bk.ru*

При реабилитации опорно-двигательного аппарата человека важно понимать физические основы выстраивания вертикальной позы в гравитационном поле. С позиции медицинской физики, все сочленения костей и мышц, из которых формируется опорно-двигательная система человека, представляют собой систему рычагов, удерживаемых человеком в равновесии. Одним из методов изучения опорно-двигательной системы является метод статокинезиметрии-оценка способности человека сохранять вертикальную позу. И, в частности, разделом этого метода является стабилотография – метод оценки способности человека удерживать проекцию центра масс в пределах координат границы площади опоры. Основным элементом стабилотографа является стабилотоплатформа, которая содержит датчики, регистрирующие изменение центра масс (через изменение давления) испытуемого. Фиксируется соответствующая стабилотограмма как совокупность фронтального и сагиттального сложного колебательного движения. По виду стабилотограммы можно судить о наличии тех или иных отклонений в работе опорно-двигательного аппарата, вестибулярной функции, зрительной сенсорной системы и т.д.

В данной статье делается попытка перенести подобные методы исследования на так называемое «столбовое» состояние. Сам термин пошел из многочисленных восточных (оздоровительных и не только) практик. В частности, в Китае подобные практики используются повсеместно. Существуют целые официальные организации, в которых активно используются подобные методы в целях лечения и профилактики. Практика «столбового» состояния может выполняться сидя, лежа, в движении, но наиболее эффективное ее терапевтическое действие проявляется в положении стоя. Человек принимает естественное симметричное вертикальное положение, позиция рук варьируется в зависимости от уровня подготовки и цели стояния. Вне зависимости от положения рук (иногда и ног, если используются не симметричные позиции тела) главным элементом является расслабление. Человек принимает заданную статическую позицию и «замирает». И именно расслабление здесь играет ключевую роль, поскольку при отсутствии его возможен обратный эффект. Поэтому подобные «стояния» начинаются с непродолжительных сеансов, чтобы практикующие постепенно овладевали мышечным расслаблением, психическим расслаблением, расслаблением внутренних органов и дыхания. Со временем продолжительность сеансов увеличивается и может достигать нескольких часов. Человек входит в общее расслабленное состояние, которое можно назвать медитативным. Все процессы протекают самопроизвольно, без какого-либо сознательного усилия со стороны практикующего.

Именно для исследования подобного «столбового» состояния и предлагается применение стабилотографа. Особенность его применения в данном случае является полное отключение «сознательной воли» человека к переживаемому состоянию. Именно это является решающим моментом в данной практике. Через получаемую стабилотограмму можно будет получить информацию о состоянии организма, идущую так сказать от самого организма без искажения от каких-либо осознанных или неосознанных воздействий со стороны самого испытуемого. Разумеется, потребуется время, чтобы человек научился в какой-то степени входить в подобное состояние «разотождествления» себя со своим телом.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОДУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КВЕРЦЕТИНА И КУРКУМИНА НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ УФ-ОБЛУЧЕНИЯ Study of the Modulatory Effect of Quercetin and Curcumin on Human Lymphocytes under UV Irradiation

Артюхов В.Г.<sup>1</sup>, Наквасина М.А.<sup>1</sup>, Холявка М.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, *artyukhov@bio.vsu.ru*

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Кверцетин и куркумин – природные полифенолы, обладающие антиоксидантной, противоопухолевой, кардио- и нефропротекторной, иммуномодулирующей, сенолитической активностью, а также фото- и радиопротекторным потенциалом. В то же время они относятся к биогенным соединениям с плейотропным характером действия, зависящим от концентрации. Так, при высоких концентрациях кверцетин может проявлять прооксидантное и цитотоксическое действие, инициировать апоптоз, нарушать состояние рафтов в мембранах, связываться с ДНК и влиять на сигналтрансдукторные системы клеток. Куркумин способен выступать в качестве фотосенсибилизатора по отношению к кератиноцитам, фибробластам и опухолевым клеткам. В этой связи представляется необходимым исследование возможного модулирующего действия кверцетина и куркумина в концентрациях  $10^{-4}$ - $10^{-8}$  моль/л на лимфоциты человека в условиях воздействия УФ-света (254 нм, 1510 Дж/м<sup>2</sup>).



Обнаружено статистически значимое снижение уровня внутриклеточных активных форм кислорода после УФ-облучения лимфоцитов в присутствии кверцетина ( $10^{-8}$  моль/л) и куркумина ( $10^{-8}$  и  $10^{-7}$  моль/л) по сравнению с таковым для клеток, модифицированных в отсутствие полифенола.

При исследовании пероксидной резистентности мембран нативных лимфоцитов в присутствии кверцетина ( $10^{-4}$ - $10^{-7}$  моль/л) выявлено снижение интенсивности свободно-радикальных процессов на поверхности иммуноцитов по сравнению с таковой для клеток без этого флавоноида. Обнаружено повышение интенсивности свободно-радикальных процессов на поверхности лимфоцитов в присутствии куркумина ( $10^{-5}$ - $10^{-8}$  моль/л) по отношению к уровню исследуемого показателя для клеток без этого полифенола.

При изучении возможной собственной антирадикальной активности кверцетина и куркумина (в модельной бесклеточной системе в присутствии  $\text{Fe}^{2+}$  и пероксида водорода) зарегистрировано повышение интенсивности свободно-радикальных реакций, что указывает на возможную прооксидантную активность этих соединений.

При исследовании уровня функциональной активности эффекторной каспазы-3 (одного из ключевых «участников» апоптоза) через 2 ч после воздействия УФ-света на лимфоциты в присутствии кверцетина ( $10^{-4}$ - $10^{-7}$  моль/л) и куркумина ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  моль/л) не выявлены статистически значимые отличия величины исследуемого параметра для клеток, фотомодифицированных в отсутствие этих соединений.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что, по всей вероятности, модулирующее действие кверцетина и куркумина на лимфоциты в условиях УФ-облучения будет определяться их возможной прооксидантной активностью, так как в клетках они способны окисляться до хинонов с образованием активных форм кислорода. Полифенолы могут взаимодействовать с липидами плазматических мембран (фосфатидилхолином и холестерином), а куркумин – с кардиолипином внутренней митохондриальной мембраны. Эти соединения влияют на упаковку молекул липидов, текучесть липидного бислоя, состояние рафтов. Следовательно, полифенолы могут стабилизировать или дестабилизировать состояние мембраны, влиять на рецепторы смерти, модулируя процессы клеточной гибели.

Полученные результаты расширяют современные представления о модулирующем действии полифенолов на лимфоциты крови человека в условиях УФ-облучения. Они полезны при обсуждении вопросов, касающихся разработки способов регулирования процессов клеточной гибели и старения иммуноцитов, а также выявления механизмов фото- и геропротекторного действия биогенных соединений.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект № FZGU-2023-0009.*

## **ПОЛ-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ, ФАКТОРОВ ГЕМОСТАЗА И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕКОНТРОЛИРУЕМОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

### **Gender-Specific Features of the Relationship Between Blood Rheological Properties, Hemostasis Factors and Metabolic Parameters in Patients with Uncontrolled Arterial Hypertension**

**Ахметова А.А.<sup>1</sup>, Демкин В.П.<sup>1</sup>, Фальковская А.Ю.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Томский государственный университет, г. Томск, РФ, [demkin@ido.tsu.ru](mailto:demkin@ido.tsu.ru)

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск, РФ

Актуальность исследования реологических свойств крови у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) обусловлена их критическим влиянием на гемодинамические процессы и регуляцию сосудистого тонуса. Особенностью течения АГ является прогрессирующее усугубление патофизиологических нарушений, что особенно актуально у пациентов с тяжелыми формами заболевания. В этих случаях наблюдается выраженное нарушение микрососудистого кровотока и изменения в реологических свойствах крови, таких как увеличение её вязкости, агрегация эритроцитов и снижение эластичности эритроцитарных мембран. Эти изменения способствуют увеличению общего периферического сосудистого сопротивления и ухудшению микроциркуляции, что негативно сказывается на сосудистом тоне и вегетативной регуляции [1]. Вязкость крови зависит от различных факторов, включая количество эритроцитов, объем плазмы, а также от уровня белков и других компонентов крови. К рутинно определяемым показателям гемостаза относятся фибриноген и тромбоциты. Последние также продуцируют факторы роста (тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF- $\beta$ ), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста эпителия (EGF), фактор роста фибробластов (FGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF)), что играет важнейшую роль в заживлении и регенерации повреждённых тканей. Учитывая половые особенности патофизиологии АГ [2], целью исследования была проверка гипотезы о том, что взаимосвязи реологических свойств крови, факторов гемостаза и метаболических показателей при неконтролируемой АГ также имеют половые отличия. Более глубокое понимание основных механизмов этих ассоциаций может помочь в улучшении контроля АД у представителей обоих полов.

В рамках исследования был проведен корреляционный анализ реологических свойств крови, факторов гемостаза и метаболических показателей у мужчин и женщин с неконтролируемой АГ ( $n = 11$ , 6 мужчин, 5 женщин, средний возраст 54,4 года, среднее АД: САД – 158,9 мм.рт.ст, ДАД – 91,3 мм. рт. ст., 5 больных СД). Обследование проводили согласно стандартам оказания медицинской помощи. Реологические свойства крови оценивали по уровню эритроцитов и гематокрита, для изучения состояния гемостаза определяли уровень тромбоцитов и фибриногена крови. Анализ осуществлялся с использованием программы STATISTICA. Критерием значимости считали  $p < 0,05$ .

Выявлены значительные различия в характере и интенсивности корреляционных связей между показателями гемореологии, свёртывающей системы и углеводно-липидного метаболизма. Содержание эритроцитов в общем анализе крови у мужчин имело взаимосвязи с тромбоцитами ( $r = -0,61$ ), тогда как у женщин – с ХС ЛПВП ( $r = 0,66$ ). Для гематокрита у лиц обоих полов были обнаружены отрицательные взаимосвязи с фибриногеном ( $r = -0,86$  для мужчин;  $r = -0,66$  для женщин), а также показателями липидного обмена (у мужчин – с ХС ЛПНП ( $r = -0,85$ ), у женщин – с общим холестерином ( $r = -0,89$ )). Эти ассоциации отражают однотипные адаптационные реакции вязкости крови при неконтролируемой АГ, не зависящие от половой принадлежности. Уровень фибриногена крови имел обратные взаимосвязи с метаболическими показателями (у мужчин – с глюкозой ( $r = -0,69$ ), у женщин – с общим холестерином ( $r = -0,89$ )). Взаимосвязи с метаболическими показателями установлены и для тромбоцитов крови. Так, у мужчин выявлена прямая связь тромбоцитов с ХС ЛПВП ( $r = 0,76$ ), у женщин – с глюкозой ( $r = 0,65$ ), ХС ЛПНП ( $r = 0,64$ ) и триглицеридами ( $r = 0,77$ ), тогда как связь с ХС ЛПВП, напротив, носила обратный характер ( $r = -0,67$ ), что свидетельствует о половых особенностях связей между метаболическими нарушениями и риском тромбообразования.

Выявленные половые отличия взаимосвязей вязкости крови, факторов свёртывания и метаболических показателей при неконтролируемой АГ подчеркивают необходимость их учета при разработке пол-специфических подходов антигипертензивного лечения, коррекции микрососудистых осложнений АГ и снижения сердечно-сосудистого риска. Документированные связи тромбоцитов, обладающих секреторной активностью, с метаболическими нарушениями могут отражать сложное участие последних в патофизиологии повышения АД, что нуждается дальнейших исследований.

1. Шаманаев А.Ю., Алиев О.И., Анищенко А.М. Синдром повышенной вязкости крови у больных артериальной гипертензией и гемореологические эффекты антигипертензивных средств // Российский кардиологический журнал, 2016, т.4, № 132, с. 97-102, doi: 10.15829/1560-4071-2016-4-97-102.

2. Gerds E, Sudano I, Brouwers S. et al. Sex differences in arterial hypertension: A scientific statement from the ESC Council on Hypertension, the European Association of Preventive Cardiology, Association of Cardiovascular Nursing and Allied Professions, the ESC Council for Cardiology Practice, and the ESC Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy // European Heart Journal, 2022, no. 43 (46), pp. 4777-4788, doi:10.1093/eurheartj/ehac470.

## СИНТЕЗ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ТАУ-КИНАЗЫ TTBK1

### Synthesis of Small Interfering RNAs to Regulate Tau Kinase TTBK1 Expression

Багаева А.О., Чупахин Е.Г.

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ, [echupakhin@kantiana.ru](mailto:echupakhin@kantiana.ru)

Гиперфосфорилирование тау-белка, опосредованное киназами TTBK1/2, – ключевой патогенетический механизм нейродегенеративных заболеваний [1, 2]. Традиционные низкомолекулярные ингибиторы обладают ограниченной специфичностью и неожиданной токсичностью. В работе предложен подход к снижению токсического эффекта гиперфосфорилированных тау-белков на основе малых интерферирующих РНК (миРНК), обеспечивающих селективное подавление экспрессии TTBK1 за счет механизма РНК-интерференции. Дизайн миРНК заключался в следующем: были подобраны последовательности длиной 21 нт с использованием алгоритма UniProt для гена MAPT (TTBK1) с учетом критериев: динуклеотид AA на 5'-конце, 30–50% GC-состав. Выбранные 20 вариантов уникальных последовательностей (например, 5'-AACAGGTGCTGAAAATGGAAG-3') были синтезированы твердофазным фосфоамидитным методом (рис. 1А) на синтезаторе Oligomaker 192 с использованием CPG-носителя и защищенных РНК-фосфорамидитов (A, U, G, C). Эффективность подавления экспрессии целевой тау-киназы TTBK1 проводили с использованием ПЦР с парами миРНК и последующем электрофореze в агарозном геле для выявления функциональных дуплексов. Методом ИФА-анализа определяли уровень TTBK1 в лизатах клеток SH-SY5Y после трансфекции миРНК.

Синтезировано 20 миРНК (выход 23–505 нг/мкл, выход ~80%) электрофореze подтвердил образование стабильных дуплексов для пар 3/5, 9/10, 11/12, 1/2'. ИФА показал снижение уровня TTBK1 в клетках на 39,4–44,2% (в среднем 41,5%) по сравнению с контролем (рис. 1Б).

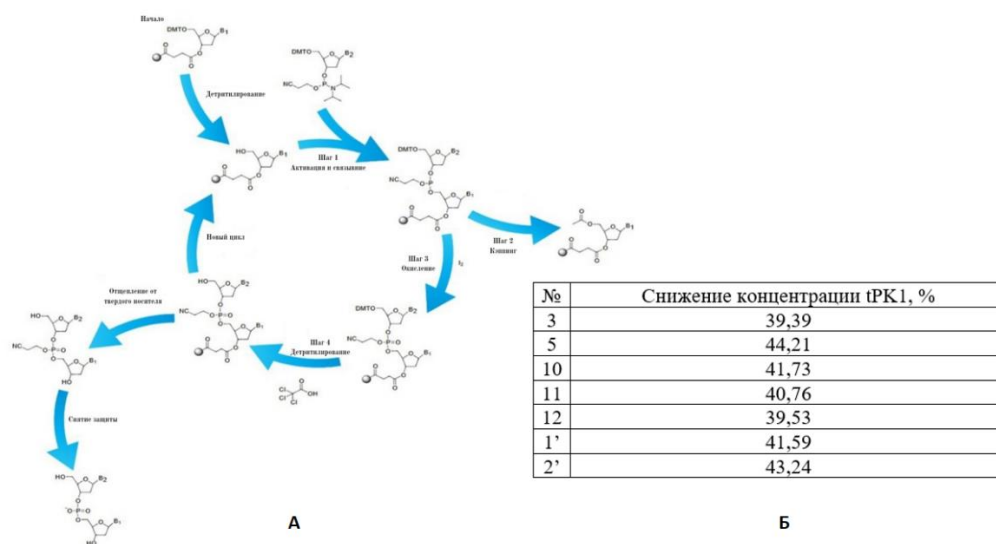


Рисунок 1. А – цикл синтеза РНК, Б – подавление экспрессии ТТВК1 функциональными миРНК

Подтверждена эффективность функциональных миРНК в подавлении ТТВК1 (в среднем 41,5%), что открывает перспективы для терапии таупатий. Предложен механизм подавления экспрессии ТТВК1 с участием белка DICER и РНК-интерференции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда грант РНФ 24-23-00603.

1. Mandelkow E.-M., Mandelkow E. Biochemistry and Cell Biology of Tau Protein in Neurofibrillary Degeneration // Cold Spring Harb. Perspect. Med., 2012, vol. 2, no. 7, p. a006247.

2. Yang J., Zhi W., Wang L. Role of Tau Protein in Neurodegenerative Diseases and Development of Its Targeted Drugs: A Literature Review // Molecules, 2024, vol. 29, no. 12.

## ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕХАНИЗМА АНТИФУНГАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ЗАЩИТНОГО ПЕПТИДА СТРУКТУРНОЙ ГРУППЫ ТИОНИНОВ ИЗ СЕМЯН НИГЕЛЛЫ ПОСЕВНОЙ (*NIGELLA SATIVA*)

### Approaches to Investigating the Molecular Mechanism of Antifungal Activity of the Thionin Defense Peptide from *Nigella sativa* Seeds

Барашкова А.С.<sup>1,2</sup>, Остроумова О.С.<sup>3</sup>, Ефимова С.С.<sup>3</sup>, Рогожин Е.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (ГНЦ ИБХ РАН), г. Москва, РФ

<sup>2</sup> Всероссийский институт защиты растений (ВИЗР), г. Санкт-Петербург, РФ, [barashkova.an@gmail.com](mailto:barashkova.an@gmail.com)

<sup>3</sup> Институт цитологии РАН (ИНЦ РАН), г. Санкт-Петербург, РФ

Антимикробные пептиды (АМП) – это обширная группа соединений различного природного происхождения, объединенные на основе общего свойства – способности подавлять рост микроорганизмов. Известны антимикробные пептиды бактерий, грибов, животных, человека, а также растений. АМП растений являются компонентами врожденного иммунитета и участвуют в защите от биотических и абиотических факторов окружающей среды. С химической точки зрения, АМП растений – это небольшие (до 10 кДа) преимущественно катионные молекулы, обогащенные остатками цистеина, формирующими дисульфидные мосты. Цистеиновые мотивы служат основой для классификации АМП растений: выделяют 8 структурных семейств. Первым описанным семейством растительных АМП стали тионины. Это молекулы массой около 5 кДа, содержащие 6 или 8 остатков Cys и обладающие выраженной антимикробной активностью.

В ходе работы из семян нигеллы посевной (*Nigella sativa*) были выделены пептиды семейства тионинов. Один из них – пептид NsW2 – был протестирован на наличие антифунгальной и антипролиферативной активности. Он показал наличие выраженной активности против природных и клинических изолятов мицелиальных грибов и дрожжей, цитотоксичность носила дозозависимый характер и была сопоставима с активностью противоопухолевого антибиотика доксорубина. Было показано, что антифунгальная активность против гриба *Aspergillus niger* была связана с разрушением спор гриба и подавлением ростовых процессов.

Для выяснения механизма активности пептида, была изучена способность NsW2 увеличивать ионную проницаемость плоских липидных бислоев. Искусственные мембраны, имитирующие природные аналоги млекопитающих, грибов и бактерий конструировали из фосфатидилхолина (PC) и фосфатидилглицерина (PG)

или фосфатидилсерина (PS), а также фосфатидилэтаноламина (PE) и эргостерола (ERG) (табл. 1). Добавление NsW2 в водный раствор с *цис-стороны* DOPC-мембраны, до концентрации менее  $31 \pm 2$  мкМ не вызывало заметного изменения трансмембранного тока, при дальнейшем повышении концентрации пептида происходило разрушение бислоя. Пороговая концентрация NsW2, необходимая для разрушения мембран ( $C_{br}$ ), состоящих из DOPC/DOPS/ERG (33/33/33 мол.%) или DOPE/DOPS/ERG (33/33/33 мол.%), была в 1,5 раза ниже (табл. 1). При этом пептид вызывал ступенчатые колебания тока, протекающего через мембраны, состоящие как из DOPC/DOPS/ERG, так и из смеси DOPE/DOPS/ERG в концентрации  $55 \pm 5$  мкг/мл ( $C_{ir}$ ). Аналогичные значения  $C_{br}$  и  $C_{ir}$  были получены для мембран DOPE/DOPG (50/50 мол.%) (табл. 1). Флуктуаций тока, наблюдаемые в эксперименте, соответствуют открытию и закрытию одиночных переходных ион-проницаемых пор.

Таблица 1. Параметры, характеризующие влияние NsW2 на модельные липидные мембраны различного состава

	Состав мембраны	$C_{ir}$ , мкМ	$C_{br}$ , мкМ
Животные	DOPC	нет	$31 \pm 2$
Грибы	DOPC/DOPS/ERG (33/33/33 моль %)	$11,6 \pm 2$	$20,4 \pm 2$
Грибы	DOPE/DOPS/ERG (33/33/33 моль%)	$10,7 \pm 2$	$21,3 \pm 5$
Бактерии	DOPE/DOPG (50/50 моль %)	$10,7 \pm 2$	$20,4 \pm 10$

Мы также исследовали действие NsW2 на липосомы, состоящие из чистого DOPC и смеси DOPC/DOPG/ERG (40/40/20 мол.%), с помощью флуоресцентной конфокальной микроскопии. В отсутствие пептида и в присутствии 10 мкМ NsW2 липидный флуоресцентный зонд, Rh-DPPE, был равномерно распределен по мембране везикул разного состава. Увеличение концентрации пептида до 20 мкМ не повлияло на равномерное окрашивание липосом DOPC, в то время как в случае везикул DOPC/DOPG/ERG (40/40/20 мол. %) приводило к образованию неокрашенных доменов, что может быть связано с присутствием упорядоченной липидной фазой в 15-20% липосом. Дальнейшее увеличение концентрации пептида до 30 мкМ приводило к разрушению липидных везикул обоих липидных составов.

Таким образом, антифунгальная и антипролиферативная активность тионина *N. sativa* связана с разрушением клеточных мембран. Пептид образует порыв искусственных бислоевых мембран и приводит к упорядочиванию липидного слоя в унламеллярных везикулах. В обоих случаях пептид проявил специфичность к мембранам с липидным составом, аналогичным природным мембранам микроорганизмов. При высоких концентрациях действие пептида связано с разрушением мембран всех рассмотренных составов в том числе, бислоев и везикул, аналогичных мембранам млекопитающих.

*Работа поддержана грантом РНФ №19-76-30005-П.*

## ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ МЕТАЛЛОВ НА ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ФОТОХРОМНОГО ХЕЛАТОФОРА

### Influence of Metal Salts on the Optical Properties of a New Photochromic Chelatophore

Беликов Н.Е.,<sup>1</sup> Демина О.В.,<sup>1</sup> Лукин А.Ю.,<sup>2</sup> Варфоломеев С.Д.,<sup>1</sup> Ходонов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, khodonov@gmail.com

<sup>2</sup> МИРЭА – Российский технологический университет, г. Москва, РФ

Изучение молекулярных механизмов преобразования световой энергии и связанных с этим фотохимических процессов и реакций в различных системах на молекулярном или субмолекулярном уровнях является одним из перспективных направлений нанопотоники.

В современной фотохимии и фотонике органических соединений особое место занимают исследования явления фотохромизма, в связи с его возможными инновационными применениями при создании различных видов фотоуправляемых систем и материалов.

Цель настоящей работы состояла: 1) в дизайне целевой структуры молекулы фотохромного хелатофора (SP 1), 2) в разработке способа его получения, 3) в изучении его фотохромного поведения и процессов комплексообразования с катионами металлов.

В химии производных спиропиранов нами ранее был разработан оригинальный прямой путь направленного введения заместителей разнообразного строения при помощи селективного формилирования по Даффу с последующей модификации формильной функции в 5'-м положении молекулы.

Исходное соединение – 6-нитроспиропиран – было селективно формилировано по C5'-положению индолинового фрагмента в условиях реакции Даффа при помощи запатентованного нами ранее метода, давая ключевой промежуточный продукт – 6-нитро-5'-формилспиропиран с выходом 86%.

Этот предложенный нами оригинальный вариант одностадийной прямой модификации молекулы фотохрома выгодно отличался от уже известных ранее реакций электрофильного замещения в ряду производных спиропиранов, проходящих по 5'-му положению индолинового фрагмента. Далее нами была продемонстрирована

возможность успешного дополнительного расширения синтетического потенциала исходного предшественника – 6-нитро-5'-формилспиропирана с помощью направленной модификации по 5'-положению молекулы фотохрома с применением хорошо известных и простых экспериментальных процедур органического синтеза. Так для получения целевого фотохромного ионофора (**SP 1**) нами впервые была использована направленная модификация формильной группы в 5'-положении молекулы исходного фотохрома с применением эффективной экспериментальной процедуры органического синтеза - восстановительного аминирования в присутствии триацетоксиборгидрида натрия и избытка аминок-компонента в среде дихлорметана. Выход целевого фотохромного лиганда (**SP 1**) с ионофорным иминодиацетатным фрагментом в C5'-положении составил 43%. Целевое соединение (**SP 1**) было наработано в препаративных количествах и его строение было подтверждено данными  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Спектры поглощения лиганда (**SP 1**) были сняты в ряду органических растворителей с разной полярностью: в этаноле, в ацетонитриле и в толуоле. Проведенное исследование спектральных характеристик нового хелатофора (**SP 1**) показало наличие у него ярко выраженного фотохромизма: в процессе УФ-облучения образца (**SP 1**) в разных органических растворителях светом ксеноновой лампы через светофильтр УФС-2 – (280-370 нм) появляются новые полосы поглощения при 538, 561, 605 нм, обусловленные образованием его мероцианиновой (MC) формы. Было проведено детальное изучение кинетики, спектральных превращений и процессов фотодеградации нового хелатофора (**SP 1**) в разных средах. Как следует из полученных данных, в процессе УФ-облучения раствора (**SP 1**) в этаноле появляется новая полоса поглощения при 538 нм, обусловленная образованием мероцианиновой (MC) формы. Полосы фотоиндуцированной MC формы фотохромного лиганда (**SP 1**) самопроизвольно медленно исчезают при выдерживании образца в темноте или быстро при облучении видимым светом, причем в толуоле процесс темнового обесцвечивания фотоиндуцированной MC формы происходит в 100 раз быстрее, чем в этаноле.

Комплексы фотохромных лигандов с катионами металлов получали добавлением от 1 до 10 эквивалентов солей одно-, двух- и трехвалентных металлов к раствору 1 эквивалента лиганда в этаноле и последующей засветкой образца светом ксеноновой лампы фирмы Hamamatsu модель Lightningcure LC8 (Hamamatsu, Япония) через светофильтр УФС-2. Процесс комплексообразования контролировали при помощи регистрации спектров поглощения в диапазоне длин волн 350 – 700 нм. После добавления растворов катионов к раствору фотоиндуцированной MC-формы спиропирана (**SP 1**) в ряде случаев для солей Al, Cr, Fe, наблюдали сильный гипсохромный сдвиг максимума полосы поглощения (разница максимумов полос поглощения фотоиндуцированных форм соединения (**SP 1**) и его комплексов с катионами,  $\Delta\lambda$ , приблизительно 120 нм).

Наблюдалась выраженная селективность ионофорного фрагмента молекулы хелатофора (**SP 1**) к образованию комплексов с солями трехвалентных катионов. Комплексы обладали различной стабильностью в темноте, но мгновенно разрушались при освещении видимым светом или под действием растворов HCl в метаноле или EDTA.

Таким образом, нами впервые было показано, что лиганд (**SP 1**) с ионофорным иминодиацетатным фрагментом в C5'-положении обладает фотоуправляемыми сенсорными свойствами на катионы металлов.

## ТВЕРДОФАЗНОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В СМЕСЯХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ПРОЕКЦИИ НА ЛАТЕНТНЫЕ СТРУКТУРЫ

### Solid-Phase Spectrophotometric Determination of Synthetic Food Colorants in Mixtures using the Partial Least Squares Regression Method

Бенчак Г.<sup>1</sup>, Бразовский К.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ,  
*galya.benchak@gmail.com*

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, РФ

Синтетические красители (СК) активно используются в пищевой и фармацевтической промышленности. СК могут вызвать аллергические реакции, гиперактивность и нарушение концентрации у детей, обладать канцерогенным и тератогенным действием.

Современные методы исследования сложных смесей основаны на высокочувствительных аналитических методиках, таких как хроматография, вольтамперметрия, инфракрасная спектроскопия и другие. Эти методы требуют сложного и дорогостоящего измерительного оборудования, расходных материалов и высокой квалификации аналитика. Твердофазные абсорбирующие полимеры с высокой поглощающей способностью и длительным удержанием аналитов открывают возможности для экспресс-исследования смесей различных веществ.

Для вычисления концентрации отдельных веществ необходимо разделить компоненты смеси на основе различий в спектрах поглощения. Простые линейные дискриминантные модели не позволяют достичь аналитической точности оценки содержания отдельных компонентов в сложной смеси. Применение хемометрических алгоритмов может помочь в решении этой задачи.

В работе использовались синтетические красители хинолиновый желтый (E104), синий патентованный (E131), бромфеноловый синий. Исходные растворы красителей с концентрацией 100 мг/л готовили по точной навеске, а рабочие растворы в более низких концентрациях получали методом последовательного разбавления исходных растворов. Были приготовлены растворы красителей с концентрацией индивидуальных компонентов в диапазоне 5-20 мг/л и их смеси.

В качестве твердого носителя для твердофазной экстракции использовались пластины полиметилметакрилатной матрицы (ПММ). ПММ изготавливался методом радикальной полимеризации в массе метилметакрилата в присутствии пероксида бензоила и комплекса метакрилата кальция и полиэтиленгликоля ПЭГ 400 [1]. ПММ обладает экстрактивной способностью по отношению к гидрофильным и гидрофобным веществам и сохраняет прозрачность после твердофазной экстракции. В работе использовались пластины ПММ размером 6,0×8,0 мм.

Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре УФ- и видимого диапазона Agilent Cary 60. Рабочий диапазон длин волн для анализа растворов красителей составил 195–900 нм, шаг регистрации – 1 нм.

Для построения моделей определения концентраций красителей были использованы метод проекции на латентные структуры с использованием пакета pls в среде программирования RStudio. [2]

Спектр поглощения красителя бромфенолового синего имеет широкую полосу поглощения с максимумом при 590 нм, красителя E104 – при 417 нм, краситель E131 – при 634 нм. Спектры поглощения красителей имеют пересечение в исследуемом диапазоне (полосы поглощения красителей бромфенолового синего и E131 имеют наложение в области 595-630 нм) и раздельное определение антибиотиков по оптической плотности в максимуме поглощения невозможно.

Для построения модели измеренные данные были разделены на обучающую и тестовую выборки. На первом этапе моделирования методом проекции на латентные структуры (ПЛС) определяется оптимальное количество латентных компонент (ЛК). Выбор оптимального числа ЛК осуществлялось на основании минимального значения RMSEP. Для построения данной модели было выбрано число ЛК равное 6, при котором RMSEP равно 1,8.

Зависимости между измеренными и предсказанными значениями имеют линейный характер. Угловой коэффициент (тангенс угла наклона) близок к единице, а коэффициент детерминации R<sup>2</sup> больше 0,7 для всех исследуемых красителей. Что говорит о достаточном качестве модели. Модель позволяет определять концентрации красителей с RMSE равной 2,9 мг/л и коэффициентом детерминации 0,82.

Нижний порог обнаружения для Хинолинового желтого составил 0,08 мкг/л, для Синего патентованного – 0,14 мкг/л, для Бромфенолового синего – 0,14 мг/л.

1. RU 2638929 C1. Способ получения полиметилметакрилата для твердофазной экстракции: патент на изобретение / Гавриленко М.А., Гавриленко Н.А.; патентообладатели Гавриленко М.А., Гавриленко Н.А. – Оpubл. 19.12.2017, Бюл. № 35.

2. Liland K., Mevik B., Wehrens R. \_pls: Partial Least Squares and Principal Component Regression\_. R package version 2.8-5, 2004, URL: <https://CRAN.R-project.org/package=pls>

## РОЛЬ РЕДОКС-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЦИТОСТАТИКОВ

### The Role of Redox-Active Compounds in Changing the Activity of Antitumor Cytostatics

Богатыренко Т.Н.<sup>1</sup>, Кандалинцева Н.В.<sup>2</sup>, Акимов А.В.<sup>1</sup>, Сашенкова Т.Е.<sup>1</sup>, Аллоярова У.Ю.<sup>1</sup>, Мищенко Д.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН, г. Черноголовка, РФ, [btn@icp.ac.ru](mailto:btn@icp.ac.ru).

<sup>2</sup> Новосибирский государственный педагогический университет, г. Новосибирск, РФ

<sup>3</sup> Государственный университет просвещения, г. Москва, РФ

**Введение.** В рамках общей задачи по созданию лекарственных препаратов для лечения социально значимых болезней была проведена работа по поиску хемосенсибилизаторов из числа редокс-активных соединений, усиливающих противоопухолевый эффект известных цитостатиков. Была изучена возможность изменения редокс-баланса опухолевых клеток специфическими гибридными полифункциональными синтетическими антиоксидантами (АО) и донорами оксида азота (NO) для лечения заболеваний, связанных с окислительным стрессом (в частности, онкологических) на опухолевый рост. В организме к увеличению концентрации NO может приводить и аскорбиновая кислота (АК). Модулируя редокс-состояния опухолей можно влиять на активность различных цитостатиков на опухолевый процесс.

**Цель исследования:** изучение влияния АК с гидрофильными халькогенсодержащими производными алкилированных фенолов (серо ТС-13 и селен ПЭК содержащими) на изменение активности ряда противоопухолевых цитостатиков: циклофосфана (ЦФ), цисплатина (сPt), доксорубина (Dox).



**Материал и методы.** Работы проводились на экспериментальных животных, полученных из Уникальной научной установки «Питомник и виварий» ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе P388 мышей линии BDF<sub>1</sub>. Критерием эффективности лечения служили показатели изменения средней продолжительности жизни (СПЖ), индекс увеличения средней продолжительности жизни (ILS% - английский вариант), выживаемость. Изменения активности метаболических парамагнитных центров опухолевых тканей животных проводилось с помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

**Результаты и выводы.** Было показано, что АК увеличивает активность ЦФ на 98% по сравнению с монотерапией и приводит к 50% выживанию животных. АК уменьшает активность сРt на 18%. На активность Dox АК практически не влияет. Добавление к этим композициям халькогенсодержащих производных алкилированных фенолов (ТС-13, ПЭК), по-разному, модулирует активность цитостатиков. ТС-13 уменьшает активность ЦФ на 22%, а ПЭК – увеличивает на 31%. Добавление к сРt с АК серосодержащего АО ТС-13 и селенсодержащего ПЭК увеличивает активность сРt на 58% и 51% соответственно, при этом приводит к 33% выживших животных. Добавление к Dox с АК АО ТС-13 уменьшает активность Dox на 10%, а ПЭК-увеличивает на 52% по сравнению с монотерапией.

Таким образом, модулируя редокс-состояния опухолей можно влиять на активность различных цитостатиков на опухолевый процесс.

*Работа выполнена в рамках госзадания №124020500019-2*

## ЛИПИДЫ ТКАНЕЙ *POLITITAPES AUREUS* (GMELIN, 1791) В НАЧАЛЕ ГОДОВОГО ЦИКЛА МОЛЛЮСКА

### Tissue lipids of *Polititapes Aureus* (Gmelin, 1791) at the Beginning of the Mollusk's Annual Cycle

Бородина А.В.<sup>1</sup>, Пименов К.А.<sup>1</sup>, Веляев Ю.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, [borodinaav@mail.ru](mailto:borodinaav@mail.ru)

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Морские организмы, благодаря своему биоразнообразию, являются богатыми природными источниками таких биологически активных веществ как полиненасыщенные жирные кислоты, стерины, белки, полисахариды, каротиноиды и др. Липиды в организме играют важную роль: образуют энергетический резерв, создают защитный термоизоляционный покров, защищают организм от химических воздействий. Общие липиды (ОЛ) моллюсков чаще всего разделяют на классы: фосфолипиды (ФЛ), моноглицериды (МГ), диглицериды (ДГ), стерины, холестерин, СЖК, триацилглицерины (ТАГ), холестериновые эфиры [1;2]. За каждым классом закреплены определенные функции в организме [2– 4]. Моллюски прибрежной зоны, постоянно подвергаются перепадам температуры, солёности, находясь в приливно-отливной зоне, часто находятся в состоянии гипоксии, аноксии. Разные ткани у моллюсков обладают разной чувствительностью к подобным изменениям окружающей среды. Эти адаптационные процессы существенно влияют на изменение соотношений структурных и запасных липидов. В Чёрном море *Polititapis aurea* встречается на песчаных грунтах и достигает в длину до 50 мм (высота до 35 мм), а на Крымском побережье распространен на северо-западном и западном побережье [5]. Исследований биологической ценности этого вида моллюсков в Черноморском регионе очень мало [6].

На основе комплексного метода определения липидов [7], авторы исследовали ОЛ, ФЛ, МГ, ДГ+ст, СЖК, ТАГ в трех тканях: нога, гепатопанкреас (ГП) и жабры моллюска *P. aurea* в весенний период, т.к. этот период связан с началом годового цикла моллюска, а также с периодом наиболее разнообразного и обильного спектра питания, вызванного весенней сукцессией фитопланктона.

Уровень ОЛ в сумме тканей моллюска *P. aurea* в весенний период составлял  $1,11 \pm 0,12$  г·100 г<sup>-1</sup> сырого веса тканей. Распределение липидов по тканям было не равномерным: в ноге –  $4,9 \pm 0,6$ ; в жабрах –  $4,7 \pm 0,7$ ; в ГП –  $16,4 \pm 0,8$  г·100 г<sup>-1</sup> сырого веса тканей соответственно. Высокое содержание липидных соединений в пищеварительной железе у двустворчатых моллюсков встречается часто и характерно для многих видов. Это основной орган метаболических реакций, что делает его особым местом для накопления различных соединений липидной природы. Содержание классов липидов во всех тканях были близкими по значениям, вместе с тем можно выделить некоторые отличия между исследуемыми тканями: низкое значение ФЛ ( $19,5 \pm 3,6\%$ ) и наиболее высокое МГ ( $5,9 \pm 1,0\%$ ) в ноге моллюска, наиболее высокое значение ДГ+Ст в ГП –  $30,9 \pm 3,9\%$ , а также высокие значения ТАГ в ноге и жабрах ( $17,5 \pm 2,3$ ;  $17,2 \pm 3,8$ ; соответственно). В сумме всех тканей было обнаружено 23 ЖК и 5 стиролов.

По результатам исследования липидов двустворчатого моллюска *P. aurea* в весенний сезон в прибрежной зоне на песочно-иловом грунте качественный и количественный состав ОЛ, ФЛ, МГ, ДГ и стиролов, ТАГ, а также их тканевая специфичность указывают на достаточный рацион питания и успешную адаптацию к прибрежным условиям (сгонно-нагонных явлений, перепадов температуры и т.п.). Об этом свидетельствует высокий уровень ОЛ в моллюске, а также высокое содержание МГ, ДГ+ст и наличие после холодного зимнего сезона достаточного

количества ТАГ (запасных липидов). О богатой и разнообразной пище моллюска свидетельствует состав ЖК и стиролов.

*Работа выполнена по теме 124030100137-6 государственного задания ФИЦ ИнБЮМ РАН «Функциональные, метаболические и молекулярно-генетические механизмы адаптации морских организмов к условиям экстремальных экотопов Черного и Азовского морей и других акваторий Мирового океана». Часть работы также выполнена в рамках госзадания № FEFM-2023-0005 (№ гос. регистрации 123021300156-4).*

1. Dean J.M., Lodhi I.J. Structural and functional roles of ether lipids // *Protein Cell.*, 2018, vol. 9 (2), pp. 196-206.
2. Bakhmet I.N., Fokina N.N., Ruokolainen T.R. Changes of Heart Rate and Lipid Composition in *Mytilus Edulis* and *Modiolus Modiolus* Caused by Crude Oil Pollution and Low Salinity Effects // *Journal of Xenobiotics*, 2021, vol. 11 (2), pp. 46-60.
3. Han X. Lipidomics for studying metabolism // *Nature Reviews Endocrinology*, 2016, vol. 12 (11), pp. 668-679.
4. Nemova N.N., Meshcheryakova O.V., Lysenko L.A., Fokina N.N. The Assessment of the fitness of aquatic organisms relying on the biochemical status // *Transactions of the Karelian Research Centre RAS*, 2014, vol. 5, pp. 18-29.
5. Revkov N.K. Macrozoobenthos of the Ukrainian zone of the Black Sea, Biological resources of the Black Sea and Sea of Azov. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2011, 365 p.
6. Borodina A.V., Zadorozhny P.A. Distinctive Variations in Carotenoid Accumulation in Tissues of the Clam *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) from the Black Sea // *Russian Journal of Marine Biology*, 2022, vol. 48 (5), pp. 393-397.
7. Borodina A.V., Velyaev Yu.O., Osokin A.R. Comprehensive methodological approach to determining lipids in clams // *Food Processing: Techniques and Technology*, 2023, vol. 53 (4), pp. 662-672.

## ЭЛЕМЕНТЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ НОВЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ МЕТОДАМИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ.

### Elements of the Construction of New Strains of Microorganisms by Methods of Genetic Engineering

**Ботин А.С.<sup>1,2,3</sup>, Арибасарова А.Ю.<sup>4</sup>, Меденцев А.Г.<sup>4</sup>, Грицай Е.П.<sup>1</sup>, Кордова-Торрес А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, г. Москва, РФ, [botin-as@rudn.ru](mailto:botin-as@rudn.ru)

<sup>2</sup> ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н. В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, РФ, [BotinAS@sklif.mos.ru](mailto:BotinAS@sklif.mos.ru)

<sup>3</sup> Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Пушкино, РФ, [alexbotin@yandex.ru](mailto:alexbotin@yandex.ru)

<sup>4</sup> Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, г. Пушкино, РФ, [aarin@rambler.ru](mailto:aarin@rambler.ru)

Успехи в области генетики микроорганизмов обусловили развитие нового направления – молекулярной генетики, являющейся основой генетической инженерии. Генетическая инженерия внесла потенциально новые идеи и методы в производство широкого спектра биологически активных веществ. Открытия и достижения, полученные на микроорганизмах, явились также основой для возникновения таких новых научных направлений, как молекулярная биология, молекулярная биотехнология, молекулярная вирусология, белковая инженерия и др.

В работе анализируются и теоретически обосновываются возможности использования методов генетической инженерии при конструировании новых штаммов микроорганизмов.

На данный момент не существует универсального «идеального» вектора, в том смысле, что разные исследования требуют использования определенных векторных систем. У всех вирусных векторных систем есть свои недостатки и свои преимущества в зависимости от выбираемых клеток-мишеней и специфики каждой задачи. В частности, преимущества рекомбинантных аденоассоциированных векторов (способность интегрировать целевой ген в геном хозяина в нужное место, что предотвращает нежелательные мутации; встраивание как в делящиеся, так и в покоящиеся клетки; широкий профиль трансдукции; низкий иммунный ответ; сильная и устойчивая экспрессия трансгена) выделяют их среди остальных вирусных векторов и делают эти векторы популярным и универсальным инструментом для доставки гена *in vitro* и *in vivo*.

В частности, CRISPR и CRISPR-ассоциированные гены (Cas) имеют большое значение в адаптивном иммунитете многих бактерий и архей, позволяя микроорганизмам реагировать на чужеродный генетический материал и устранять его.

Помимо упомянутых важных применений в биомедицинских исследованиях, CRISPR-Cas9 также предлагает более прямые приложения в медицине. Уже апробировано использование редактирования генома при помощи CRISPR-Cas9 для вырезания нуклеотидных последовательностей ВИЧ и предотвращения репликации этого вируса в человеческих клеточных линиях. Его также применяли для удаления мутированных последовательностей в мышцах с мышечной дистрофией Дюшенна, которая вызывает мышечную слабость, что дает надежду на успешную терапию пациентам и семьям, страдающим этим и другими похожими генетическими заболеваниями. Отмечается, что предприняты попытки радикального редактирования генома свинных эмбрионов при помощи CRISPR-Cas9 с целью создать способ безопасно получать органы для трансплантации человеку.



Благодаря этим инновационным достижениям, CRISPR-Cas9 система превращена из узкоспециализированного раздела микробиологии в перспективный исследовательский инструмент, позволяющий легко и с высокой точностью редактировать гены для различных целей.

Проведя анализ ряда методов генной инженерии, сделан вывод о том, что нет универсального метода, так как каждый из них имеет свои преимущества и ограничения, и выбор зависит от конкретных потребностей и задач.

Следует отметить, что техника генной инженерии – это не только инструмент для практического «улучшения» штаммов, но и мощный способ познания механизмов биосинтеза и регуляции метаболизма микроорганизмов. Дальнейшие успехи в конструировании высокопродуктивных штаммов микроорганизмов зависят от совместной работы микробиологов, генетиков, биохимиков и генных инженеров. Для этого в лабораториях для модификации микроорганизмов должны быть созданы условия, позволяющие максимально эффективно использовать все возможности генной инженерии.

Современный период развития микробиологии тесно связан с научно-техническим прогрессом, потребностями народного хозяйства и здравоохранения. Он характеризуется комплексностью исследований, направленных как на решение общебиологических проблем, так и задач, связанных с рациональным использованием природных ресурсов, охраной окружающей среды, развитием сельского хозяйства, здравоохранения, микробиологической, горнодобывающей и биотехнологической промышленности.

### **РАДИОРЕЗИСТЕНТНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ** **Radiation-Resistant Cell Lines as a Promising Model for Studying Multidrug Resistance**

**Бурдаков В.С., Верлов Н.А.**

НИЦ «Курчатовский Институт» – ПИЯФ, г. Гатчина, РФ, *Burdakov\_vs@npni.nrcki.ru*

Лучевая терапия – ключевой метод лечения злокачественных новообразований, однако её эффективность ограничивается развитием радиорезистентности. Механизмы включают селекцию устойчивых субпопуляций, индукцию мутаций и изменения микроокружения опухоли. Особую значимость имеет связь радиорезистентности с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), где общие молекулярные пути (репарация ДНК, ЭМП, регуляция клеточного цикла) определяют перекрёстную резистентность к химиопрепаратам. Цель работы – сравнительный анализ радиорезистентных субпопуляций CT26-WT, полученных при разных режимах фракционирования, с оценкой их морфофункциональных и фармакологических характеристик.

В ходе исследования была поставлена задача изучить, как различные режимы фракционированного облучения влияют на формирование радиорезистентности и лекарственной устойчивости у клеток колоректального рака мыши CT26-WT. Для этого были получены две радиорезистентные субпопуляции: одна после 20 фракций по 2 Гр (CT26-WT-RR2), вторая – после 4 фракций по 10 Гр (CT26-WT-RR10), при одинаковой суммарной дозе 40 Гр. Для сравнения использовалась также исходная (родительская) линия CT26-WT.

Комплексный анализ включал морфологическую оценку клеток, определение радиочувствительности (клоногенный тест, Alamar Blue), мониторинг пролиферации (импедансометрия), анализ фаз клеточного цикла и тестирование чувствительности к цисплатину и гемцитабину. Морфологически радиорезистентные субпопуляции отличались от родительской линии: у CT26-WT-RR2 отмечалось увеличение размеров клеток и появление веретенообразных форм, что свидетельствует о начале эпителиально-мезенхимального перехода. В субпопуляции CT26-WT-RR10 эти изменения были выражены сильнее – клетки становились крупнее, теряли плотные межклеточные контакты и приобретали полиморфизм, характерный для мезенхимального фенотипа.

Функциональные тесты показали, что обе радиорезистентные субпопуляции обладают сниженной радиочувствительностью по сравнению с исходной линией, при этом наиболее выраженная радиорезистентность наблюдалась у CT26-WT-RR10. Анализ клеточного цикла выявил увеличение доли клеток в фазе G1 и снижение в S-фазе у наиболее радиорезистентной субпопуляции, что может быть связано с усилением механизмов репарации ДНК и снижением чувствительности к повреждающему действию радиации.

Важным результатом стало обнаружение перекрёстной множественной лекарственной устойчивости: обе радиорезистентные субпопуляции оказались менее чувствительны к цисплатину ( $IC_{50}$  для CT26-WT-RR10 – 32 мкМ против 12 мкМ у CT26-WT.) и гемцитабину ( $IC_{50}$  = 80 нМ для CT26-WT-RR10 против 20 нМ для CT26-WT), чем родительская линия. Это подтверждает наличие общих молекулярных механизмов устойчивости к радиации и химиопрепаратам, связанных, в частности, с эпителиально-мезенхимальным переходом и изменениями в регуляции клеточного цикла.

Таким образом, режим фракционирования существенно влияет не только на степень радиорезистентности, но и на профиль лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Полученные данные подчеркивают необходимость индивидуального подбора протоколов лучевой терапии с учётом риска формирования устойчивых к лечению субпопуляций, что особенно актуально для предотвращения развития множественной лекарственной устойчивости и повышения эффективности комбинированных противоопухолевых подходов.

## РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТФОРМИНА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

### The Risks of Metformin using in the Breast Cancer Complex Therapy

Бутенко Е.В., Бакурова Е.М.

Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк, РФ, 32000023@mail.ru

В комплексном лечении эстрогенрецептор-позитивного рака молочной железы (РМЖ) наряду с химиопрепаратами используют антиэстрогены, в частности, торемифен [1]. При этом, было отмечено модулирующее влияние метформина при проведении такой терапии неoadъювантно. Эффекты этого бигуанида изначально выявлены при лечении пациенток с сопутствующим сахарным диабетом [2]. Оценивая эффективность неoadъювантной терапии, регистрировали снижение пролиферации по уровням экспрессии Ki-67. Однако ранее было также показано, что эпителиальные опухоли при снижении интенсивности пролиферации претерпевают эпителиально-мезенхимальную трансформацию (ЭМТ), т.е. агрессивные свойства. В связи с этим крайне важным является изучение рисков применения бигуанида метформина (МТФ) в комплексном лечении РМЖ.

Для оценки его эффектов спектрофотометрическим методом в образцах резецированных опухолей РМЖ исследовали особенности ферментативной активности аденозиндезаминазы (АДА), которую, как показывали ранее, может стимулировать МТФ [3]. Также определяли активность антиоксидантов - супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО) (в табл. 1 представлены их медианные и квартильные значения). Контролем служили визуально нетрансформированные ткани края резекции опухоли.

Таблица 1. Особенности ферментативной активности карцином РМЖ в зависимости от применения метформина неoadъювантно Ме; (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>)

материал	АДА	СОД	ГПО
контроль	123,9 (98,2; 140,1)	1,1 (0,7; 1,2)	4,3 (2,2; 4,8)
РМЖ без МТФ	197,9 (143,7; 230,4)*	0,9 (0,8; 1,1)	3,4 (2,9; 3,9)*
РМЖ с МТФ	230,1 (183,3; 308,9)**	1,4 (1,2; 1,9)*	2,0 (1,4; 3,3)**

Примечание: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с контролем

В образцах аденокарцином больных, получавших неoadъювантно МТФ, выявлена максимальная активность АДА, что хорошо согласуется с описанным эффектом препарата. Однако при этом в них выявлен выраженный дисбаланс активности ферментов АОС. Так, именно для них характерны минимальные значения активности ГПО, в то время как активность СОД повышалась. Следовательно, предположить, что использование бигуанида способствует активации прооксидантных процессов, формированию активных метаболитов кислорода. Однако, это может стимулировать формирование агрессивных свойств опухоли. Известно, что пероксид водорода является по сути сигнальной молекулой, запускающей ЭМТ. Можно считать, что применение препарата может способствовать формированию агрессивных свойств опухолей РМЖ. Наши результаты по исследованию особенностей активности ферментов АОС в опухолях РМЖ на фоне приёма бигуанида и описанный риск развития ЭМТ хорошо согласуются с результатами исследований Семиглазовой Т. Ю. и соавт., выявивших, что торемифен в комбинации с МТФ снижает интенсивность пролиферации карцином РМЖ. Выявленное снижение экспрессии Ki-67, по сути, указывает на развитие ЭМТ. При этом опухоль становится резистентной к химио- и лучевой терапии, активно метастазирует [4].

Сопоставление результатов исследования с данными других авторов, позволяет сделать вывод, что использование бигуанидов в комплексной терапии РМЖ крайне неблагоприятно, поскольку может стимулировать формирование агрессивных свойств карцином.

1. Семиглазова Т.Ю., Осипов М.А., Криворотько П.В. и др. Метформин и мелатонин в неoadъювантной гормонотерапии местно-распространенного рака молочной железы // Вопросы онкологии, 2018, т. 64, № 5, с. 612-619.

2. Sonnenblick A., Agbor-tarh D., Bradbury I. et al. Impact of Diabetes, Insulin, and Metformin Use on the outcome of Patients with Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Primary Breast Cancer: Analysis From the ALto Phase III Randomized trial // J. Clin. oncol., 2017. vol. 35, no. 13, pp. 1421-1429, doi: 10.1200/JCo.2016.69.7722.

3. Шатова О.П., Бутенко Е.В., Хомутов Е.В. и др. Антиметаболическая терапия метформином // Профилактическая и клиническая медицина, 2015, т. 56, № 3, с. 118-122.

4. Бакурова Е.М., Пацкань И.И., Кондратюк Р.Б. и др. Некоторые метаболические особенности карцином при формировании их агрессивных свойств // Архив клинич. и эксперимент. медицины, 2022, № 4, с. 358-363.

## БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ УРОМОДУЛИНА Biophysical Approaches to the Determination of Uromodulin

Верлов Н.А., Бурдаков В.С., Ланда С.Б., Эмануэль В.Л.

НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, г. Гатчина, РФ, *verlov\_na@pnpi.nrcki.ru*

Уромодулин, или белок Тамма-Хорсфолла, является основным белком мочи млекопитающих и играет ключевую роль в регуляции водно-электролитного баланса, защите от инфекций и предотвращении образования камней. Его концентрация в моче рассматривается как биомаркер состояния нефрона, хронической болезни почек и ряда наследственных тубулоинтерстициальных заболеваний. Биофизические свойства уромодулина определяются его способностью к полимеризации с образованием высокомолекулярных олигомеров (до 10 МДа), что существенно влияет на методы его количественного анализа. Стандартный иммуноферментный анализ (ELISA) часто дает вариабельные результаты из-за склонности белка к агрегации и чувствительности к условиям пробоподготовки, что затрудняет стандартизацию метода для сравнительных исследований у человека и животных.

В качестве альтернативы нами был предложен биофизический подход, основанный на определении разницы концентрации общего белка в моче до и после фильтрации через мембрану с порогом отсека 300 кДа. Этот метод позволяет количественно оценить содержание полимеризованного уромодулина, поскольку основные белки плазмы (альбумин, IgG) свободно проходят через фильтр, а уромодулин в виде олигомеров задерживается. Для количественного анализа применяли метод Бредфорда и белковый электрофорез. Все они показали сопоставимые результаты, а корреляция с данными ELISA с буфером TEA (разрушающим олигомеры) достигала  $R=0,9-0,94$  (в зависимости от вида животных), что подтверждает эквивалентность выбранного подхода. Дополнительно для количественной оценки использовали анализ треков наночастиц для верификации специфичности.

Преимуществом биофизического подхода к определению концентрации уромодулина в моче является его независимость от специфических антител и меньшая чувствительность к вариациям пробоподготовки, что делает его доступным для широкого круга лабораторий и особенно ценным для исследований уромодулина у животных, где антитела часто недоступны. Совмещение биофизических и иммунологических методов позволяет не только определять общую концентрацию уромодулина, но и оценивать соотношение его полимеризованных и мономерных форм, что важно для понимания состояния нефрона и адаптационных механизмов почки. Таким образом, биофизические подходы к определению концентрации уромодулина открывают новые возможности для стандартизированной диагностики и исследований в нефрологии человека и животных.

## НЕЙРОЭНДОКРИННЫЕ СИСТЕМЫ ПРИ СТАРЕНИИ: ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ, ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ Neuroendocrine Axes in Aging: Individual Features, Effects of Constant Lighting

Гончарова Н.Д.

Курчатовский комплекс медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт», г. Сочи, РФ,  
*ndgoncharova@mail.ru, Goncharova\_ND@nrcki.ru*

Проблема возрастных эндокринных дисфункций и их связи со стресс-зависимой возрастной патологией и негативными факторами окружающей среды актуальна вследствие резкого увеличения заболеваемости социально-значимой возрастной патологией (сердечно-сосудистой, эндокринной, психиатрической, метаболической, нейродегенеративной) из-за расширения диапазона стрессовых факторов, среди которых значительная роль отводится световым загрязнениям окружающей среды. Однако не все индивиды в равной степени уязвимы к стрессовым факторам и тяжелой возрастной патологии. В основе индивидуальной уязвимости к негативным факторам окружающей среды и социально-значимой возрастной патологии могут лежать индивидуальные особенности функционирования организма и его реакции на воздействие факторов окружающей среды, прежде всего со стороны высшей нервной деятельности, в частности, поведения, и ключевых адаптивных нейроэндокринных систем – гипоталамо-гипофизарно-адреналовой (ГГАС), гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной (ГГТС). Целью настоящего исследования явилось изучение индивидуальных особенностей возрастных изменений функции ГГАС и ГГТС и их индивидуальной чувствительности/устойчивости к постоянному освещению (ХПО) на модели лабораторных приматов, различающихся по поведению в условиях мягкого стресса (с беспокойным/депрессивноподобным поведением, DAB и здоровым стандартным поведением, SB).

В экспериментах использовали 40 физически здоровых молодых половозрелых (6-9 лет) и 30 старых (20-28 лет) самок макаков резусов (*Macaca mulatta*) из Адлерского приматологического центра. Исследование проводили в июне-сентябре, когда для этого вида приматов не характерны овариальные циклы. До начала опытов

животных адаптировали к условиям раздельного проживания, процедурам инъекций и взятия образцов крови в течение 4 нед. Выделяли молодых и старых животных с SB и DAB. При проведении эксперимента различали базальный период (контрольный, до начала ХПО) и собственно экспериментальный. В собственно экспериментальном периоде (период ХПО, в течение 8 нед) в комнате с молодыми и старыми животными включали искусственное освещение (330-400 лк) с помощью светодиодных ламп, предназначенных для офисных и жилых помещений (модель 71302 NLL-G-N8-18-230-4K-G13, Navigator). В тоже самое время, в комнате с контрольными животными освещение оставалось обычным, с естественным чередованием света и темноты (стандартное освещение, СО). Функцию нейроэндокринных систем оценивали в базальный период и на фоне ХПО (или СО) путем изучения циркадианного ритма их активности, а также реакции на острое стрессовое воздействие (ОСВ, нежесткая иммобилизация в течение 2х ч) и специфические модуляторы их активности (кортикотропина, АКТГ; тиреолиберина, ТРГ; тиреотропина, ТТГ).

Выявлены выраженные различия в характере старения нейроэндокринных систем у приматов с DAB и SB в базальных условиях и на фоне ХПО. Так, при старении у животных с DAB реакция АКТГ на ОСВ не изменялась или повышалась, в то время как у индивидов с SB – снижалась. Разнонаправленные возрастные изменения в реакции АКТГ на ОСВ у животных с DAB и SB приводят к выраженным межгрупповым различиям в реакции гипоталамо-адреналовой оси на ОСВ с более выраженной величиной подъема концентрации АКТГ и молярного соотношения кортизол (КОРТ)/дегидроэпиандростерон-сульфат у старых животных с DAB. Существенный интерес представляют также данные о развитии при старении у приматов с DAB относительной резистентности ГГАС к регуляции по механизму отрицательной обратной связи на основе минералкортикоидных рецепторов, сопровождающейся повышением базальных уровней АКТГ и КОРТ в послеполуденное – ночное время. Постоянное освещение оказывало ингибирующее действие на величину подъема секреции КОРТ в ответ на ОСВ, которое носило зависимый от возраста характер: сопровождалось аналогичными изменениями в секреции АКТГ у молодых животных, но не оказывало существенного влияния на гипоталамную секрецию у старых индивидов.

Получены оригинальные данные о развитии при старении у приматов выраженных изменений в функционировании ГГТС, зависящих от особенностей поведения индивида. Так, у животных с DAB отмечалось существенное снижение секреции свободного тироксина (Т4, гипотироксинемия) в базальный период в 9.00, 15.00 и 22.00 при практическом отсутствии изменений концентрации свободного трийодтиронина (Т3) в циркуляции, в то время как у животных с SB выявлено, наоборот, снижение концентрации Т3 в 15.00, 22.00 и 3.00 при отсутствии существенных изменений в концентрации Т4. В ответ на введение ТРГ у старых животных с DAB выявлено выраженное снижение величины подъема концентрации Т4 наряду с увеличением секреции ТТГ, а тест с введением ТТГ подтвердил ослабление секреторной активности щитовидной железы у при старении у животных с DAB. Постоянное освещение (4-5 нед) оказывало выраженное ингибирующее действие на величину подъема секреции Т4 в ответ на введение специфических активаторов функции щитовидной железы (ТРГ и ТТГ) у старых животных независимо от поведенческой принадлежности. В то же время, у молодых животных, как со SB, так и DAB, ХКО индуцировало выраженное снижение величины подъема уровня Т3 при введении ТТГ, которое сохранялось и через 1 год после отмены ХПО при незначительных изменениях в секреции Т4. В отличие от опытных животных, динамика концентраций Т4 и Т3 в плазме периферической крови у контрольных молодых и старых животных в ответ на введение как ТРГ, так и ТТГ на фоне СО (4-5 нед) не претерпевала существенных изменений. Реакция ТТГ в условиях ХКО, а также СО в ответ на введение ТРГ, в отличие от тиреоидных гормонов, не подвергалась существенным изменениям.

Таким образом, развивающиеся при старении нарушения функции нейроэндокринных систем носят характер, зависимый от особенностей высшей нервной деятельности индивида, в частности поведения. Наиболее выраженные эндокринные дисфункции характерны для старых индивидов с DAB. Постоянное освещение вносит дополнительный диссонанс в возрастные нарушения функции ГГАС и ГГТС, индуцируя преимущественно нарушения в области периферических желез. Формируемый в условиях ХПО гормональный дисбаланс сопровождается метаболическим дисбалансом с повышением уровней глюкозы, триглицеридов, глюкозо-триглицеридного индекса, важного маркера резистентности к инсулину и прогноза социально-значимых возрастных заболеваний (сердечно-сосудистых, цереброваскулярных, депрессии, сахарного диабета 2 типа). Кроме того, ХПО, индуцируя снижение реакции ГГАС и ГГТС в условиях их активации, способствует понижению адаптационных способностей индивида.

## ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РАЗВИТИЯ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

### Prediction of Acute Myocardial Infarction Development in Individuals Exposed to Chronic Low-Dose Ionizing Radiation

Горина Г.В.<sup>1,2</sup>, Литвинова О.В.<sup>1,2</sup>, Смаглий Л.В.<sup>1,3</sup>, Светлик М.В.<sup>2,3</sup>, Тахауов Р.М.<sup>1,3</sup>, Тахауов А.Р.<sup>1</sup>, Каширина С.А.<sup>3</sup>, Нетесова Е.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Северский биофизический научный центр ФМБА России, г. Северск, РФ, [gorina.gal@mail.ru](mailto:gorina.gal@mail.ru)

<sup>2</sup> Томский государственный университет, г. Томск, РФ

<sup>3</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ

Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из основных причин инвалидизации и смертности населения промышленно развитых стран. Наиболее распространённой причиной смерти является ишемическая болезнь сердца, на долю которой приходится 13 % от общего количества смертей в мире. По данным ВОЗ наибольший прирост смертности с 2000 г. пришёлся именно на ишемическую болезнь сердца: к 2021 г. смертность от него возросла на 2,7 млн случаев и составила 9,1 млн [1]. В Российской Федерации в 2023 г. в структуре смертности населения наибольшую долю составляли болезни системы кровообращения (46,2 % всех случаев смерти). Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в нашей стране неуклонно увеличивается, о чём свидетельствует динамика общих и стандартизованных показателей, а также является причиной значительных социально-экономических потерь. При этом наиболее значительное увеличение смертности отмечено в самых активных возрастных группах – 20-59 лет. Из общего числа умерших в трудоспособном возрасте 80 % составляют мужчины [2].

С целью совершенствования системы профилактических мероприятий, направленных на снижение уровня заболеваемости и смертности от острого инфаркта миокарда (ОИМ), была выбрана прогностическая модель для построения прогноза ОИМ для населения г. Северска в зависимости от полученных доз облучения, с учётом наиболее значимых предикторов данного заболевания (возраст, систолическое артериальное давление (САД), сахарный диабет (СД), артериальная гипертензия (АГ), индекс массы тела (ИМТ), суммарная доза внешнего облучения (СДВО), курение, возраст на момент облучения (ВНО)). Расчёты проводились методом бинарной логистической регрессии с помощью пакета прикладных программ Excel, Statistics и StatTech. Для построения прогностической модели использованы данные из регионального медико-дозиметрического регистра Северского биофизического научного центра, который содержит персональные данные, информацию о заболеваемости, смертности, параметрах здоровья, жизненном статусе, профессиональной деятельности, дозиметрической информации жителей г. Северска [3]. Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$P = e^F / (1 + e^F),$$

где  $e$  – основание натурального логарифма ( $e = 2,7183$ );  $F$  – расчётное значение функции.

При этом:  $F(x) = b_0 + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3 + b_4 \cdot x_4 + b_5 \cdot x_5 + b_6 \cdot x_6 + b_7 \cdot x_7$ , где  $x_1$  – уровень максимального САД, мм рт. ст.;  $x_2$  – возраст, лет;  $x_3$  – наличие или отсутствие СД (1 – да; 2 – нет);  $x_4$  – курение (1 – да; 2 – экс-курильщик; 3 – нет);  $x_5$  – наличие или отсутствие АГ в анамнезе (1 – да; 2 – нет);  $x_6$  – ИМТ, кг/м<sup>2</sup>;  $x_7$  – СДВО/ВНО (мЗв/лет); Коэффициенты:  $b_0 = -20,42$ ;  $b_1 = 0,020$ ;  $b_2 = 0,322$ ;  $b_3 = 0,308$ ;  $b_4 = -0,300$ ;  $b_5 = 0,571$ ;  $b_6 = 0,025$ ;  $b_7 = -0,181$ . Индекс (СДВО/ВНО) указывает на повышение вероятности возникновения ОИМ при интенсивном накоплении дозы внешнего облучения в молодом возрасте вследствие того, что организм, находящийся в фазе роста, имеет относительно высокую скорость деления и дифференцировки клеток. Чувствительность полученной прогностической модели – 67 %, специфичность – 95,9 %. При  $p < 0,5$  прогнозируют высокий риск развития фатального и нефатального ОИМ в течение года; при  $p \geq 0,5$  прогнозируют низкий риск развития фатального и нефатального ОИМ в течение года.

Для проверки модели на работоспособность использовалась экзаменационная группа из 32 человек (30 мужчин и 2 женщины), в анамнезе которых имелся ОИМ. По представленной модели рассчитана высокая вероятность развития ОИМ для 11 человек ( $P < 0,5$ ); низкая – для 21 человека ( $P \geq 0,5$ ).

Таким образом, данные, полученные с помощью представленной прогностической модели, позволят повысить эффективность реализации государственных программ, направленных на сохранение трудового долголетия, уменьшение проблем развития сердечно-сосудистых катастроф среди работающего населения, контактирующего с источниками ионизирующего излучения (персонал АЭС, предприятий по переработке ядерных отходов, оборонных предприятий).

1. Официальный сайт ВОЗ. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Дата обращения 10.06.2025.

2. Постановление Правительства Российской Федерации от 25.12.2024 № 1888 «О внесении изменений в постановление Правительства Российской Федерации от 26 декабря 2017 г. № 1640 "Об утверждении государственной программы Российской Федерации "Развитие здравоохранения"».

3. Калинин Д.Е., Самойлова Ю.А., Тахауов А.Р. и др. Социально-экономические потери среди населения промышленного города вследствие болезней системы кровообращения и злокачественных новообразований // Социальные аспекты здоровья населения, 2023, № 69 (6), с. 4, doi: 10.21045/2071-5021-2023-69-6-4.

## АНАЛИЗ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ У *DUNALIELLA SALINA*, СИНТЕЗИРУЕМЫХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

### Analysis of Fatty Acid Composition in *Dunaliella Salina* under Different Stress Factors

Дегтяр И.В., Веляев Ю.О., Осокин А.Р., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, ivdegtyar@mail.sevsu.ru

Микроводоросли являются уникальными микроорганизмами, способными производить разнообразные полезные биомолекулы, такие как белки, липиды, витамины и каротиноиды, которые востребованы в пищевой промышленности, медицине и сельском хозяйстве [1]. Одним из наиболее интересных видов является *Dunaliella salina*, известная своей способностью накапливать высокий уровень каротиноидов (в частности, бета-каротина) и важных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК)[2].

Проведенные ранее исследования показали, что при оптимизированных условиях культивации, таких как освещенность и наличие питательных веществ, количество ПНЖК достигает значительных уровней, достигая до 15-18 мг на грамм сухой биомассы [3]. Важно отметить, что в условиях стресса, таких как высокая соленость или недостаток азота, продукция полезных компонентов значительно увеличивается, делая *D. salina* привлекательным кандидатом для промышленного использования. Кроме того, полученные данные подтверждают высокую устойчивость *D. salina* к неблагоприятным факторам окружающей среды, что подчеркивает ее огромный потенциал как источника экологически чистых и экономически выгодных продуктов питания и здравоохранения [4]. Настоящая работа направлена на выявление особенностей синтеза ПНЖК у штамма IBSS-1 *Dunaliella salina* под действием различных стрессовых воздействий.

Культуры микроводоросли *Dunaliella salina* штамма IBSS-1 (предоставлена лабораторией биотехнологии и фиторесурсов ФИЦ ИнБЮМ) выращивались в климатических камерах ВРС МИР 500 при контролируемой температуре  $20 \pm 2$  °C с циклом освещения 12 ч света / 12 ч темноты (12/12 LD), интенсивность белого LED-света составляла  $\sim 90$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . Рост клеток отслеживался методом спектрофотометрии, измерялась оптическая плотность культур на волне 750 нм. Клетки культивировались до достижения стационарной фазы в стандартной среде Ben-Amotz с добавлением NaCl (2 М), затем весь объем культуры делился на контрольный образец и экспериментальные образцы, подвергаемые воздействию стрессовых факторов, при этом температура во всех экспериментах оставалась постоянной ( $20 \pm 2$  °C): контроль – стандартная среда Ben-Amotz с NaCl (2М), освещение  $\sim 90$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ; эксперимент 1 – увеличение концентрации NaCl до 4М и повышение интенсивности света до  $\sim 1000$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ; эксперимент 2 – повышенная интенсивность света  $\sim 1000$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$  и добавление раствора перекиси водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) с концентрацией 2,5 мМ; эксперимент 3 – комбинация высокого уровня NaCl (4М), повышенной интенсивности света ( $\sim 1000$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ) и добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2,5 мМ).

Для анализа образцы объемом 15 мл отбирались через определенные промежутки времени (1 час, 4 часа, сутки, неделю, 2 недели и 5 недель) и центрифугировались при 10000 оборотах в минуту в течение 5 мин, после чего осуществлялась экстракция жирных кислот (далее – ЖК) смесью метанол: метилтретбутиловый эфир - 3:7, далее экстракт очищали и проводили метилирование ЖК [5]. Метилвые эфиры ЖК в пробе идентифицировались с помощью хромато-масс-спектрометрического анализа.

В исследованном в данной работе штамме *D. salina* идентифицировано 12 жирных кислот, среди которых доминирующими (с содержанием свыше 10%) являются линоленовая, пальмитиновая, линолевая и 4,7,10,13-гексадекатетраеновая кислоты. Во всех экспериментальных условиях отмечено увеличение концентрации миристиновой, 4,7,10-гексадекатриеновой, пальмитиновой и стеариновой кислот. При этом характер накопления насыщенных и ненасыщенных жирных кислот варьировал в зависимости от сочетания применяемых стрессовых факторов.

Работа выполнена в рамках государственного задания Севастопольского государственного университета «Фотобиофизический мониторинг окружающей среды на основе спектрально-флуоресцентных свойств, структурно-организованных молекулярных (включая наночастицы) и супрамолекулярных биологически важных систем (FEFM-2023-0005).

1. Hertzler S.R., Lieblein-Boff J.C., Weiler M., Allgeier C. Plant proteins: assessing their nutritional quality and effects on health and physical function // Nutrients, vol. 12 (12), p. 3704, doi: 10.3390/nu12123704.

2. Hu J., Meng W., Su Y., Qian C., Fu W. Emerging technologies for advancing microalgal photosynthesis and metabolism toward sustainable production // Frontiers in Marine Science, 2023, vol. 10, 1260709, doi: 10.3389/fmars.2023.1260709.

3. Guschina I.A., Harwood J.L. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae // Progress in lipid research, 2006, vol. 45 (2), pp. 160-186, doi: 10.1016/j.plipres.2006.01.001.
4. Khozin-Goldberg I., Iskandarov U., Cohen Z. LC-PUFA from photosynthetic microalgae: occurrence, biosynthesis, and prospects in biotechnology // Applied microbiology and biotechnology, 2011, vol. 91 (4), pp. 905-915, doi: 10.1007/s00253-011-3441-x.
5. Веляев Ю.О., Бородин А.В., Пименов К.А., Осокин А.Р. Изучение различных методологических подходов к извлечению жирнокислотной фракции из сложной биологической матрицы и идентификация её состава с помощью хромато-масс-спектрометрии // Сорбционные и хроматографические процессы, 2025, т. 25 (1), с. 73-89, doi: 10.17308/sorpchrom.2025.25/12796.

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ЧЕЛОВЕКА Enhancement of Human Hemostasis System Diagnostics

Демкин О.В.<sup>1</sup>, Лобанова А.О.<sup>1</sup>, Новикова О.А.<sup>1</sup>, Руденко Т.В.<sup>1,2</sup>, Удут В.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Томский государственный университет, г. Томск, РФ, [rudenko@ido.tsu.ru](mailto:rudenko@ido.tsu.ru)

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ

<sup>3</sup> НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, РФ

Проблема лабораторного контроля системы гемостаза в норме и при разнообразных патологических состояниях занимает одно из центральных мест в клинической практике. Состояние гемостаза формируется в результате взаимодействия между реологическими характеристиками крови, эндотелиальными клетками и факторами свертывания крови. Сопряженность этих трех компонентов гемостаза в разной степени проявляется на этапах сосудисто-тромбоцитарных, коагуляционных и фибринолитических реакций. Дисбаланс в любом из этих компонентов может привести к кровотечению или тромбозу.

Реологические свойства крови влияют на гемостаз через реакционно-диффузионную кинетику факторов свертывания, в свою очередь процессы свертывания крови изменяют вязкостные характеристики и соответственно формируют реологическую модель крови. Определяющую роль в изменении вязкоупругих свойств крови и, соответственно, формировании состояния гемостатического потенциала (ГП) играет фибрин, образующийся в результате взаимодействия тромбина и фибриногена. Нарботка тромбина в результате конкурирующих ферментативных реакций задает соответствующую динамику образования фибрина, обеспечивая изменение агрегатного состояния крови. По этой причине при исследовании состояния ГП особое внимание уделяется оценке кинетики образования и инактивации тромбина как триггеру гемокоагуляции. В связи с этим, определение мощности генерации тромбина (эндогенного тромбинового потенциала) способно интегративно отобразить состояние гемостаза не только в физиологическом состоянии, но и в патологии. При этом крайне важным является соблюдение «нативной среды» тромбина – то есть проведении исследования на цельной крови.

Тест генерации тромбина (ТГТ) [1] имеет ряд ограничений, среди которых: использование стабилизированной крови с последующей рекальцификацией, необходимость отделения клеточных компонентов крови от плазмы для проведения регистрации флуоресценции. При этом методика выполнения существующего теста генерации тромбина достаточно сложна, требует специального оборудования и дорогостоящих расходных материалов.

Нами предложен новый метод оценки генерации тромбина и эндогенного тромбинового потенциала резонансно-акустическим методом с применением технологии низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ) для определения вязкоупругих характеристик в процессе свертывания крови в условиях периодических сдвиговых напряжений [2].

Экспериментальные исследования, выполненные по технологии НПТЭГ, показали, что основным фактором изменения вязкоупругих характеристик крови в процессе коагуляции является увеличение концентрации фибрина, производство которого является результатом основных биохимических реакций. В соответствии с кинетическим уравнением образования фибрина можно записать

$$N_{FII_a} = \frac{\alpha}{N_{FI} \times R_{I,II}} \frac{d\eta}{dt} \quad (1)$$

где  $N_{FII_a}$ ,  $N_{FI}$ ,  $R_{I,II}$  – концентрации активированного тромбина, фибриногена;  $R_{I,II}$  – скорость соответствующей биохимической реакции;  $\alpha$  – коэффициент пропорциональности между сигналом низкочастотного пьезотромбоэластографа и скоростью изменения вязкости крови, определяемый из калировки прибора по жидкости с известным коэффициентом вязкости. Таким образом, зная начальную концентрацию фибриногена, константу скорости биохимической реакции  $R_{I,II}$  и определив скорость изменения коэффициента вязкости  $\frac{d\eta}{dt}$ , можно вычислить динамику наработки тромбина в процессе коагуляции крови. Для определения  $\frac{d\eta}{dt}$  используются экспериментальные данные зависимости амплитуды  $A(t)$  колебаний иглы-резонатора пьезоэлектрического датчика от времени. Полученная зависимость является основой определения эндогенного

тромбинового потенциала  $TP = \int N_{FII_a} dt$  как показателя тромботической активности системы гемостаза для оценки прокоагулянтной и антикоагулянтной систем цельной крови в физиологическом состоянии или патологии.

1. Hemker H. C., Al Dieri R., De Smedt E. et al. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system // *Thromb Haemost*, 2006, iss. 96, no. 5, pp. 553-561.

2. Демкин В.П., Мельничук С.В., Удут В.В. и др. Физические принципы метода низкочастотной пьезотромбоэластографии для изучения реологических свойств цельной крови // *Известия вузов. Физика*, 2019, т. 62, № 6, с. 47-56.

## ХИТОЗАН И N-(2-ГИДРОКСИ)ПРОПИЛ-3-ТРИМЕТИЛАММОНИЙ ХИТОЗАН КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ Chitosan and N-(2-hydroxy)propyl-3-trimethylammonium Chitosan as Promising Hemostatic Agents

Дубовицкая А.Н.<sup>1</sup>, Холявка М.Г.<sup>1,2</sup>, Сорокин А.В.<sup>1</sup>, Лавлинская М.С.<sup>1</sup>, Артюхов В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, [holyavka@rambler.ru](mailto:holyavka@rambler.ru)

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Кровотечение представляет собой критическое состояние, которое может возникнуть как в бытовых, так и в экстремальных условиях. Одним из наиболее востребованных полимеров, применяемых в производстве коммерческих гемостатических средств, является хитозан, представляющий собой линейный полукристаллический полисахарид, содержащий не менее 60% деацетилированных групп D-глюкозамина. Аминогруппы хитозана образуют поликатионы, взаимодействующие с природными и синтетическими анионами, такими как отрицательно заряженные белки, липиды и эритроциты. Положительный заряд остатков D-глюкозамина способствует гемостазу через активацию эритроцитов и тромбоцитов, вызывая их агрегацию, что делает хитозан и его производные перспективными кандидатами для разработки эффективных кровоостанавливающих средств. Свойства хитозана зависят от его молекулярной массы и степени ацетилирования [1]. Тем не менее, чистый хитозан имеет довольно низкие показатели прочности и стабильности в водных средах [2], поэтому целесообразным решением может стать введение дополнительных аминогрупп, что позволит повысить растворимость хитозана в физиологическом диапазоне pH. Хотя модификация хитозана аминогруппами улучшает его коагуляционные характеристики, необходимо соблюдать баланс между степенью модификации и сохранением его исходных свойств. Чрезмерная модификация потенциально может повлиять на естественную биосовместимость и функциональные свойства хитозана, что подчеркивает необходимость тщательной оптимизации при разработке гемостатических материалов на основе названного полимера. В связи с этим необходима всесторонняя проверка цитотоксичности хитозана и его производных, включая измерение уровня вызванного ими гемолиза эритроцитов, что и стало целью данной работы. Уровень гемолиза этих клеток измерялся согласно методике, изложенной в работе [3], при этом за положительный контроль принимали образцы с полным гемолизом, вызванным добавлением дистиллированной воды, а за отрицательный – образцы с уровнем нулевого гемолиза эритроцитов с добавлением физиологического раствора (табл. 1).

Таблица 1. Уровень гемолиза эритроцитов под действием хитозана (ХТЗ) и N-(2-гидрокси)пропил-3-триметиламмоний хитозана (ГПХ) различных молекулярных масс (200 и 350 кДа)

Модификатор	Степень гемолиза, %
ХТЗ 200, 0,1 %	4 ± 0,02
ХТЗ 200, 0,01 %	8 ± 0,02*
ХТЗ 350, 0,1 %	35 ± 0,01*
ХТЗ 350, 0,01 %	28 ± 0,03*
ГПХ 200, 0,1 %	на уровне контрольных образцов
ГПХ 200, 0,01 %	на уровне контрольных образцов
ГПХ 350, 0,1 %	5 ± 0,02
ГПХ 350, 0,01 %	на уровне контрольных образцов

Примечание: \* - отличия от контрольных значений статистически достоверны при  $p < 0,05$

Золотым стандартом для лекарственных препаратов является уровень гемолиза эритроцитов  $\leq 2\%$  [4]. Нами установлено, что наименьший гемолиз вызывает препарат ГПХ с молекулярной массой 200 кДа, при этом допустимой концентрацией может считаться как 0,01%, так и 0,1%, что делает его многообещающим кандидатом для биомедицинских приложений. При этом уровень гемолиза, вызванный хитозаном молекулярной массы 200 кДа, оказался несколько выше допустимого уровня. Это также является дополнительным фактором в пользу необходимости модификаций хитозана для создания гемостатирующих агентов. Таким образом, модификация



хитозана с образованием *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозана является перспективным направлением в области разработки гемостатирующих средств ввиду его низкой цитотоксической активности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект 25-74-20024*

1. Nakielski P., Pierini F. Blood interactions with nano-and microfibers: Recent advances, challenges and applications in nano-and microfibrillar hemostatic agents // *Acta biomaterialia*, 2019, vol. 84, pp. 63-76
2. Radwan-Pragłowska J. et al. Chitosan-based bioactive hemostatic agents with antibacterial properties – synthesis and characterization // *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 14, p. 2629.
3. Артюхов В.Г. и др. Практикум по биофизике. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016, 313 с.
4. Lee H. et al. Hemolysis control in the emergency department by interventional blood sampling // *Journal of Personalized Medicine*, 2023, vol. 13, no 4, p. 651.

## ПОВРЕЖДЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛОЙ И СРЕДНЕЙ ДОЗАХ

### Mitochondrial Genome Damage in Mesenchymal Stem Cells after Exposure to Low- and Medium-Doses X-Ray Radiation

Душенко М.В., Абдуллаев С.А., Осипов А.Н.

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ  
*margd@list.ru*

В настоящее время наиболее хорошо исследованным типом клеток, используемым в регенеративной медицине, являются мультипотентные мезенхимные стволовые (стромальные) клетки (МСК).

Способность дифференцироваться в разных направлениях, сильные иммуномодулирующие свойства, а также секреция противовоспалительных молекул делают МСК эффективным инструментом для лечения различных патологий, в том числе для устранения негативных последствий лучевой терапии. Так, была показана эффективность МСК в лечении радиационно-индуцированных повреждений сердца [1], кишечника [2] и лёгких [3]. Тем не менее, несмотря на положительные стороны использования МСК, существует ряд малоизученных аспектов, требующих серьёзных фундаментальных исследований. Одними из наиболее важных являются возможные негативные эффекты воздействия ионизирующего излучения в малых дозах при проведении часто сопутствующих клеточной терапии диагностических радиологических процедур, в частности КТ.

Существует довольно много эпидемиологических работ, свидетельствующих об увеличении рисков возникновения злокачественных новообразований у детей и подростков после проведения КТ [4, 5]. С другой стороны, существуют данные, свидетельствующие о положительных эффектах КТ-диагностики: уменьшение смертности от рака у людей и экспериментальных животных.

Накопленные за последние годы сведения указывают на то, что важнейшей мишенью радиационного поражения наряду с ядром являются митохондрии. Известно, что структурные и функциональные нарушения, индуцируемые радиацией в этих органеллах, оказывают влияние на пострadiaционное развитие целого комплекса эффектов на уровне клеток и целого организма животных и человека.

В настоящее время ряд исследователей считают, что митохондриальная ДНК (мтДНК) – более уязвимая мишень клетки, чем ядерная ДНК (яДНК), для эндогенных и экзогенных повреждающих агентов.

Цель данной работы – исследовать повреждения и восстановление мтДНК наряду с яДНК, определить уровень мутантных копий мтДНК, а также экспрессии генов, участвующих в окислительном фосфорилировании, регуляции биогенеза и динамики митохондрий в культивируемых МСК человека через 24 ч после воздействия рентгеновского излучения в дозах 80 и 2000 мГр.

Доза 80 мГр соответствует максимальной дозе, используемой при проведении КТ.

Оценивали наличие повреждений яДНК и мтДНК в МСК через 24 ч после облучения рентгеновским излучением в дозах 80 и 2000 мГр. Измеряли длинные фрагменты яДНК (13.5 тыс. п. н.) и мтДНК (8.9 тыс. п. н.). Эти данные были нормированы к коротким фрагментам яДНК (260 п. н.) и мтДНК (221 п. н.), полученным с использованием того же образца ДНК. Установлено, что через 24 ч после облучения в дозе 80 мГр повреждений в яДНК и мтДНК не регистрировалось. Однако после облучения МСК в дозе 2000 мГр уровень синтезируемых продуктов ПЦР-ПФ яДНК и мтДНК существенно снижался по сравнению с контролем (необлучённые клетки), что указывало на наличие в них повреждений, способных блокировать ПЦР-ПФ.

Как известно, в митохондриях млекопитающих, в том числе человека, эффективно функционирует только эксцизионная репарация оснований ДНК. Более того, двунитевые разрывы (ДР) мтДНК не репарируются и мтДНК с возникновением ДР может подвергаться деградации. Поэтому можно предположить, что если восстановление яДНК в пострadiaционный период в клетках может происходить за счёт репарационных систем, то стабильность мтДНК, скорее всего, обеспечивается за счёт биогенеза митохондрий с синтезом новых копий мтДНК. Через 24 ч после облучения клеток в дозе 2000 мГр наблюдалось статистически значимое увеличение

количества копий мтДНК примерно на 50 % относительно контроля. После облучения в дозе 80 мГр количество копий мтДНК значимо не изменялось.

Полученные результаты свидетельствуют, что через 24 ч после облучения клеток в дозе 2000 мГр происходит статистически значимое повышение уровня мутантных копий мтДНК примерно на 15 % относительно контроля. Однако после облучения в дозе 80 мГр мутантных копий мтДНК не регистрировалось.

Как известно, появление новых мутантных копий мтДНК может привести к митохондриальной дисфункции с повышением окислительного стресса.

Анализ экспрессии генов, участвующих в окислительном фосфорилировании, кодируемых мтДНК (*ND2* – компонент комплекса I, *CytB* – компонент комплекса III), а также яДНК (*ATP5O* – компонент комплекса V, субъединица АТФ-синтазы), показал, что через 24 ч после облучения клеток в дозе 2000 мГр регистрировалось значимое снижение экспрессии всех трёх генов. Через 24 ч после облучения МСК в дозе 2000 мГр происходило значительное увеличение транскриптов двух генов яДНК, кодирующих митохондриальный фактор транскрипции A (*TFAM*) и гамма-коактиватор рецептора, активируемого пролифератором пероксисом 1-альфа (*PGC1a*), которые участвуют в регуляции репликации, транскрипции мтДНК и митохондриального биогенеза. Что касается генов *MFN1* и *FIS1*, контролирующих слияние и деление митохондрий, то их активность снижалась.

При снижении дозы рентгеновского излучения до 80 мГр экспрессия всех исследуемых нами генов мтДНК значимо не изменялась.

Таким образом, воздействие рентгеновского излучения в дозе 80 мГр по всем анализируемым параметрам не приводило к митохондриальным нарушениям в МСК. Однако через 24 ч после облучения в дозе 2000 мГр регистрировались повреждения в мтДНК и яДНК. В то же время наблюдалась активация синтеза мтДНК с повышенным уровнем гетероплазмы (мутантных копий мтДНК). Очевидно, что увеличение количества копий мтДНК является результатом активации ядерных генов, контролирующих биогенез митохондрий. Можно предположить, что повышенный уровень гетероплазмы мтДНК приводит к пертурбации работы комплексов окислительного фосфорилирования и генерации повышенного уровня активных форм кислорода и азота, которые индуцируют дополнительные повреждения яДНК. Снижение экспрессии ядерных генов, регулирующих динамику митохондрий, вероятно, способствует уменьшению элиминации дисфункциональных органелл в МСК.

*Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 23-14-00078).*

1. Ullah I., Subbarao R.B., Rho G.J. Human mesenchymal stem cells – current trends and future prospective // Bioscience reports, 2015, vol. 35.

2. Konno M., Hamazaki T.S., Fukuda S. et al. Efficiently differentiating vascular endothelial cells from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in serum-free culture // Biochemical and biophysical research communications, 2010, vol. 400, pp. 461-465.

3. Wang Y., Yu X., Chen E., Li L. Liver-derived human mesenchymal stem cells: a novel therapeutic source for liver diseases // Stem cell research & therapy, 2016, vol. 7, p. 71.

4. Morikawa S., Mabuchi Y., Niibe K. et al. Development of mesenchymal stem cells partially originate from the neural crest // Biochemical and biophysical research communications, 2009, vol. 379, pp. 1114-1119.

5. Gao S., Zhao Z., Wu R. et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves radiation-induced heart injury through DNA damage repair in rat model // Radiat Environ Biophys, 2017, vol. 56, pp. 63-77.

## ПОСТРОЕНИЕ АЛГОРИТМА ОЦЕНКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ОСНОВЕ ШИРОКОПОЛОСНОЙ ЭЛЕКТРОИМПЕДАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ Development of a Tumor Cell Viability Evaluation Algorithm using Broadband EIS

Зайцева Е.А.<sup>1</sup>, Бразовский К.С.<sup>1,2</sup>, Плотников Е.В.<sup>2</sup>, Шарычев И.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ,  
zaycevae2001@gmail.com

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, РФ

Развитие современных подходов к противоопухолевой терапии подразумевает широкое использование методов *in vitro* для оценки эффективности перспективных технологий борьбы со злокачественными новообразованиями. Сейчас в практике для измерения параметров жизнеспособности клеток, преимущественно, применяется проточная цитофлуометрия с использованием специализированных флуоресцирующих меток, способных связываться с определенными поверхностными белками, специфичных для опухолевых клеток. Этот метод характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью, но при этом требует применения дорогостоящих реагентов с небольшим сроком годности. Таким образом, значительно ограничивается проведение скрининговых поточных исследований *in vitro*.

Альтернативные методики обнаружения клеток в состоянии существенно сниженной жизнеспособности основаны на измерении электрических свойств клеточных культур и гомогенизированных тканей. Они не требуют сложной подготовки образцов и применения дорогостоящих реагентов. Подобный подход может значительно облегчить проведение исследований и создание новых вариантов лечения.

Целью данной работы было построить алгоритм оценки жизнеспособности опухолевых клеток на основе широкополосной электроимпедансной спектроскопии.

Исследования проводились с клеточной линией Jurkat E6.1 (Т-лимфобластный лейкоз), которая культивировалась в стандартных условиях. Перед проведением измерений часть клеток обрабатывалась спиртом для активации процессов апоптоза. После этого с помощью проточной цитофлуориметрии образцы были разделены на «живые» (с неповрежденными клеточными мембранами) и «мертвые» (у которых целостность мембран была нарушена). Концентрация клеток в образцах составляла 6 млн. на 1 мл.

Для проведения измерений собиралась экспериментальная установка, состоящая из измерителя GW Instek LCR-78101G (базовая погрешность 0,1 %), подключенного к компьютеру с программным обеспечением для обработки данных и соединенного с проточной кюветой с измерительной апертурой. Измерения проводились в диапазоне частот от 20 Гц до 1 МГц. Статистический анализ полученных данных выполнялся с помощью пакета программ RStudio версии 4.3.1.

Было получено по шесть спектров для групп живых и мертвых клеток. Перед анализом данных все спектры были нормализованы и аппроксимированы с помощью модели низкочастотного фильтра Баттерворта.

Фильтр Баттерворта – это фильтр, разработанный для максимально гладкой амплитудно-частотной характеристики в полосе пропускания и монотонной характеристики в полосе задерживания. Он относится к классу фильтров с максимально плоской характеристикой и хорошо подходит для задач, где важна гладкость АЧХ, но не требуется резкий переход между полосами.

Было проведено сравнение характеристик полученных моделей (частота среза и порядок фильтра Баттерворта) в группах «живых» и «мертвых» клеток с помощью критерия Манна-Уитни. По значению частоты среза различий выявлено не было. Однако, по порядку спектра были выявлены значимые отличия (значение критерия Манна-Уитни - 8, р-уровень составил 0,03). В эквивалентной электрической цепи это означает, что живые клетки за счет сохранения мембран добавляют эквивалентную емкость к фильтру нижних частот, которым описывается измерительная ячейка. В случае с мертвыми клетками этого не происходит.

На основании результатов сравнения была определена точка отсечения со значением 0,88 для дальнейшей разработки алгоритма. Выбор этого значения объясняется тем, что оно является первым квартилем для группы «живых» и третьим квартилем для группы «мертвых» клеток. Если значение порядка фильтра у изучаемой клеточной культуры меньше значения точки отсечения, то его относят к группе мертвых клеток, если больше или равно, то к группе живых. Процент правильных решений данного правила классификации составляет 83% для исследованных образцов.

Построенный алгоритм включает следующие блоки: загрузка данных, предварительная обработка данных, определение группы клеток, вывод результатов. Данные измерения спектра образца загружаются в виде датафрейма со столбцами частота, импеданс и фазовый угол. Предварительная обработка данных состоит из функций расчета полного значения импеданса, построения модели фильтра Баттерворта, расчета частоты среза, порядка фильтра и среднеквадратичной ошибки полученной модели. Определение группы клеток осуществляется путем сравнения полученного значения порядка фильтра со значением точки отсечения. В результате работы алгоритма выводятся: значение частоты среза образца, значение порядка фильтра Баттерворта образца, среднеквадратичная ошибка модели, группа клеток (Живые ОК / Мертвые ОК). Алгоритм реализован в виде скрипта на языке R.

## ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

### Study of the Mechanism of Efficiency of using Microwave Radiation in Pharmaceutical Production

Казаринов К.Д., Полников И.Г.

Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, г. Фрязино, РФ, [kazarinov@ms.ire.rssi.ru](mailto:kazarinov@ms.ire.rssi.ru)

Среди многочисленных применений микроволнового излучения в медицинской практике встречаются случаи использования его в качестве инструмента подготовки биологических образцов для последующего измерения масс-спектрометрических характеристик [1]. Протеомный анализ претерпел в последнее время значительную эволюцию. Благодаря появлению более высокопроизводительного аналитического оборудования и контрольно-измерительных приборов, подготовка биологических образцов стала одним из лимитирующих стадий продолжительности процесса определения характеристик белков. То есть, этап подготовки проб теперь можно рассматривать, как ограничивающий фактор с точки зрения пропускной способности и извлечения для многих протоколов измерений характеристики белков. Разработка методов микроволнового облучения как протеомного инструмента стало направлением повышения производительности пробоподготовки биологических образцов для масс-спектрометрического анализа.

Микроволновое излучение КВЧ диапазона успешно изучается и применяется в исследовательской и практической медицине. Изучались биотехнологические процессы, которые показали большие возможности этого направления. Использование КВЧ-излучения оказалось интересно тем, что по сравнению с химическими агентами оно не имеет побочных эффектов (аккумуляции метаболитов и образования новых

биохимических цепочек в метаболизме организма). Таким образом, была показана целесообразность использования КВЧ-излучения в производстве биофармацевтических препаратов [2]. С целью изучения механизмов КВЧ биохимических эффектов, в наших работах была обоснована возможность локального повышения температуры поверхностного слоя облучаемого водного объекта при КВЧ облучении. Оценки величины локального нагрева с учетом теплопроводности водной среды показали, что при непрерывном КВЧ облучении с ППМ (плотность падающей мощности) до 10 мВт/см<sup>2</sup> максимальный подъем температуры не может превышать 0,2 °С. В то же время, градиенты температуры в зоне интенсивного поглощения в гетерогенной среде могут быть значительными для межфазной неустойчивости водного раствора. В наших исследованиях были использованы экспериментальные методы исследования гидродинамических явлений, вызванных интенсивным поглощением КВЧ излучения в воде. Исследование профиля температуры, образующегося при облучении тонких слоев воды оптическими методами, показало, что распределение температуры при поглощении КВЧ излучения указывает на движение жидкости. В наших экспериментах наблюдался конвективный «факел» в середине кюветы при ППМ 20 мВт/см<sup>2</sup>. Механизм конвективного движения в этом случае, очевидно, термогравитационный, т.е. связан со всплыванием нагретых элементов жидкости.

Существенно иной характер имеет неустойчивость тонких слоев воды, в которых доминирующее влияние оказывает термокапиллярный эффект (межфазная конвекция). Высокое поглощение воды и, следовательно, малая глубина проникновения КВЧ излучения, приводят к тому, что вся падающая мощность поглощается в тонком слое, т.е. в воде появляются градиенты температуры. Можно было видеть, как более светлый слой, температура которого повышена в результате поглощения КВЧ излучения, начинает растягиваться по поверхности, вовлекая в движение жидкость по всей кювете. При поглощении водой КВЧ излучения появление градиента температур вызывает градиент поверхностного натяжения и, следовательно, движение жидкости в поверхностном слое. [3].

С учетом вышесказанного можно попытаться объяснить эффекты КВЧ излучения в экспериментах с участием химических реакций в мембранах, учитывая возможность ускорения доставки реагентов к месту реакции. Возвращаясь же к приведенным в начале публикации результатам использования КВЧ излучения в процессах подготовки проб водных растворов белков к масс спектрометрическим измерениям можно представить эффект конвекции в водных средах под действием КВЧ излучения в качестве механизма наблюдаемых явлений ускорения технологических процессов. Этот вывод позволяет объяснить приведенные в начале данной статьи факты повышения параметров скорости и увеличения выхода продукта в технологических процессах пробоподготовки материалов для последующего этапа масс спектрометрических измерений. Изменение мощности КВЧ излучения позволит регулировать скорость реакций технологических процессов.

*Работа выполнена в рамках Госзадания ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН.*

1. Wiley Periodicals // Inc. Mass. Spec. Rev., 2007, vol. 26, pp. 657-671.
2. Кузнецов Д.Б. Перспективы применения электромагнитных излучений крайне высокой частоты малой мощности в формации // Фундаментальные исследования, 2012, № 10, ч. 2, с. 400-404.
3. Казаринов К.Д. Исследование мембранотропной активности ЭМИ в широком диапазоне длин волн // Электронная техника. Сер. 1. СВЧ-техника, 2018, вып. 2, с. 62-75.

## НОВЫЙ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС НА ОСНОВЕ ФТАЛОЦИАНИНА АЛЮМИНИЯ И БЕСКИСЛОРОДНОГО ГРАФЕНА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

### Novel Supramolecular Complex Based on Aluminum Phthalocyanine and Oxygen-free Graphene for Biomedical Applications

**Клименко И.В., Трусова Е.А., Лобанов А.В.**

<sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, [inna@deom.chph.ras.ru](mailto:inna@deom.chph.ras.ru)

<sup>2</sup> Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, г. Москва, РФ, [trusova03@gmail.com](mailto:trusova03@gmail.com)

<sup>3</sup> Московский педагогический государственный университет, г. Москва, РФ, [avlobanov@mail.ru](mailto:avlobanov@mail.ru)

В настоящее время все больше научных работ связано с расширением возможности применения металлофталочланиновых комплексов (МеФц) в биомедицине, включая разработку инновационных систем доставки лекарств и новых актуальных фотосенсибилизаторов для диагностики и фотодинамической терапии. Один из них, фталочланин хлорид алюминия (АлСлФц), рассматривается как средство для альтернативного подхода к диагностике и лечению онкологических заболеваний и микробных инфекций.

АлСлФц – ароматическое макрогетероциклическое соединение (C<sub>32</sub>H<sub>16</sub>AlClN<sub>8</sub>), являющееся фотосенсибилизатором второго поколения [1], обладает целым рядом уникальных фотохимических свойств: высокими фотоактивностью и фотостабильностью, высоким коэффициентом поглощения в области 650-680 нм («терапевтическое окно») и высоким квантовым выходом синглетного кислорода <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (Φ<sub>Δ</sub> = 0,91). Благодаря сочетанию этих свойств АлСлФц имеет низкую фототоксичность и быструю фармакодинамику, проявляет

высокую селективность при обнаружении опухолевой ткани и глубокое проникновение в неё. Центральный ион металла  $Al^{3+}$  обеспечивает фотобиологическую эффективность и повышает фототоксичность. Ценным преимуществом  $AlClF_6$  также является его способность избирательно накапливаться в злокачественной ткани и эффективно удаляться из нее через 24 часа после введения лекарственного средства. Однако из-за высокой гидрофобности, которая характерна для всех тетрапирролов,  $AlClF_6$  имеет тенденцию к агрегации в водных и физиологических средах, в результате чего частицы, образовавшиеся при ассоциации молекул и последующей агрегации, становятся фотохимически неактивными.

Различные методы используются для предотвращения агрегации  $MeF_6$  в водных и водно-органических средах и их дальнейшего использования в различных биомедицинских применениях. Один из них – использование тераностических двумерных (2D) наноуглеродных материалов в качестве компонентов гибридных супрамолекулярных систем.

В данной работе был синтезирован и охарактеризован с использованием оптической и ИК спектроскопии, просвечивающей электронной микроскопии, спектроскопии комбинационного рассеяния новый гибридный комплекс  $AlClF_6$  – графен – диметилформамид (ДМФА) – вода. Показано влияние графена на растворимость макротетрапирролического тетрапиррольного соединения  $AlClF_6$  и его способность образовывать упорядоченные структуры в водно-органическом растворе.

Установлено, что функционализация бескислородного графена (Бг) молекулами  $AlClF_6$  приводит к образованию гибридных структур с улучшенными фотофизическими и фотохимическими свойствами, где Бг контролирует агрегацию  $AlClF_6$ , препятствуя его агрегации.

Это позволяет рассматривать синтезированный комплекс как перспективный компонент препарата, подавляющий образование тромбов при использовании в таргетной терапии. По-видимому, гидрофобные листы Бг, благодаря  $sp^2$ -электронной системе, предотвращают сближение эритроцитов друг с другом на коротких расстояниях.

1. Klimenko I.V., Trusova E.A., Shchegolikhin A.N. et al. Surface modification of graphene sheets with aluminum phthalocyanine complex // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures, 2022, vol. 30, no. 1, pp. 133-139, doi: 10.1080/1536383X.2021.1976754.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ЧАСТИЦ (EPs) С МЕТАБОЛИЗМОМ ХОЛЕСТЕРИНА

### The Relationship of Extracellular Particles (EPs) with Cholesterol Metabolism

Ланда С.Б., Пантина Р.А., Бурдаков В.С., Варфоломеева Е.Ю., Байрамуков В.Ю., Федорова Н.Д., Верлов Н.А.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина, РФ

Холестерин является одним из важнейших метаболитов млекопитающих. Он является существенным компонентом клеточных мембран, предиктором многих стероидных гормонов и поверхностно-активных веществ желчи и других биологически активных веществ. Концентрация холестерина служит биомаркером патологических процессов, таких как ИБС, диабет, болезни накопления и др. Метаболизм холестерина описан достаточно подробно. Его существенным звеном является один из типов невезикулярных экстраклеточных частиц (NEVPs) – липопотеины. Свойства, состав, структура, и функции липопотеинов изучены достаточно подробно. Также подробно описана роль липопотеинов в различных патологических процессах.

Однако номенклатура EPS, связанных с холестерином далеко не исчерпывается только липопотеинами. Поскольку, холестерин входит в состав клеточной мембраны, он содержится в большинстве EPs везикулярного типа, такими как различные классы экзосом и апоптотических везикул и тел. Однако и этим связь EPs с холестерином не исчерпывается. Наши исследования показали наличие корреляции между концентрацией холестерина в плазме крови и концентрацией в ней как минимум двух видов EPS – экзосом и экзомеров. При этом коэффициент детерминации  $R^2$  между концентрацией общего холестерина в плазме и концентрацией экзосом/экзомеров был существенно выше чем коэффициент детерминации между концентрацией холестерина, связанного с липопотеинами и этих EPs.

С помощью ингибирования как экзогенного, так и эндогенного холестерина, ингибируется секреция экзосом и экзомеров. Но при этом ингибиторы поглощения эндогенного и экзогенного холестерина действуют на разные виды EPs. Эзетемиб, ингибирующий поглощение экзогенного холестерина тормозит секрецию экзосом, тогда как аторвастатин, ингибирующий синтез эндогенного холестерина не оказывает влияние на секрецию экзосом, но тормозит секрецию экзомеров. Это связано с тем, что эндогенный холестерин практически сразу после синтеза подвергается воздействию холестеринэстеразы с образованием сложных эфиров холестерина с жирными кислотами. Этерифицированный холестерин не подвержен окислению, которое ведет к образованию токсичных продуктов холестерина, и хранится в клетке в липидных каплях наравне с триглицеридами и фосфолипидами. Эта форма холестерина не может секретироваться гепатоцитами в виде липопотеинов, но его излишки выводятся из клеток в виде экзомеров. Ингибирование холестеринэстеразы авасимибом приводит к образованию продуктов

окисления холестерина, что в свою очередь ведет к образованию и секреции из клеток экзосомоподобных апоптотических везикул, особого класса апоптотических EPs.

Таким образом можно полагать наличие тесной связи метаболизма холестерина с биогенезом и секрецией различных типов EPs, выделение которых зависит от блокировки различных чувствительных точек метаболизма холестерина, а секреция вышеназванных EPs, может служить биомаркером того или иного механизма метаболизма холестерина.

## ПРОГРАММА ДЛЯ ОБРАБОТКИ ИТОГА СКАНИРОВАНИЯ МЫШЛЕНИЯ ЦЕПНЫМ ВЕРБАЛЬНЫМ ТЕСТОМ

### Program for Processing the Results of Thought Scanning using a Chain Verbal Test

Лесных В.Н., Елистратов А.В., Коломбет В.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, 1253vadim@mail.ru

**Цель исследования:** Анализ тесного функционирования двух систем внимания – дорзальной (DAN) и вентральной (VAN) – в процессе мышления человека [1]. Анализ выполняется с помощью созданного авторского экспериментального метода – ассоциативного цепного вербального теста (ЦВТ), дополненного разработанной компьютерной программой с целью автоматизированной интерпретации результатов ЦВТ [2].

**Основная гипотеза:** Мышление связано с циклическим взаимодействием систем DAN (внутреннее, целенаправленное внимание) и VAN (внешнее, ориентированное на неожиданные стимулы внимание). Каждая смена пары состояний внимания DAN+VAN вызывает направленный скачок в соседнее состояние вдоль цикла, состоящего из 8 дискретных состояний настроения.

#### Методика:

1 - Волонтеры выполняют ЦВТ, записывая серию ассоциаций к исходному слову. Это состояние DAN, а в произвольный момент (это уже состояние VAN) происходит переключение на выписывание серии ассоциаций к последнему слову предыдущей серии, т.е. к следующей серии ассоциаций в DAN.

2 - Используются инструменты обработки естественного языка (NLP) – spacytextblob и VADER – для анализа эмоциональной окраски ассоциаций (полярности и тональности).

3 - Результаты объединяются в интегральный числовой показатель (настроение), отражающий динамику эмоционального состояния во время мышления.

#### Программная реализация:

- Анализ на Python с использованием NLP-библиотек текста теста, полученного в ЦВТ. Представлен полный рабочий текст программы, можно скопировать и использовать, но можно воспользоваться (PoiskGeniya.ru, golosaVgolove.ru).

- В алгоритм включено двойное сглаживание результатов для повышения точности.

- Выполняется автоматическое разбиение на фрагменты всей серии численных оценок настроений в ЦВТ, а также автоматический подбор стандартных шаблонов переключений настроения.

#### Основные результаты:

1 - Обнаружены закономерные дискретные изменения настроения, соответствующие циклам DAN+VAN.

2 - Программа позволяет визуализировать динамику настроения и выделять характерные паттерны.

3 - Выявлено, что понятия «внимание» и «настроение» являются ключевыми (по-видимому, необходимыми и достаточными) для описания процесса мышления человека.

#### Практическое значение:

А - Автоматизация анализа ЦВТ повышает объективность и скорость диагностики когнитивных процессов.

Б - Метод может использоваться для дополнительной диагностики ментальных состояний и аномалий мышления.

В - Результаты подтверждают необходимость рассматривать внимание как результат взаимодействия двух систем, а не отдельного механизма.

**Перспективы:** i - Возможность расширения методики другими NLP-инструментами. ii - Дальнейшее уточнение эмпирических шаблонов и параметров анализа. iii - Применение в психоанализе, клинической диагностике и исследовании когнитивных функций.

*Работа выполнена по госзаданию ИТЭБ РАН, № регистрации 075-00223-25-03.*

1. Corbetta M., Shulman G.L. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain // Nat. Rev. Neurosci., 2002, vol. 3, pp. 201-215, doi: 10.1038/nrn755. PMID: 11994752.

2. Коломбет В.А., Лесных В.Н., Елистратов А.В. Перспектива исследования психоактивных веществ в биофизическом психоанализе // Известия Института инженерной физики, 2024, № 2 (72), с. 49-56.

**ВОЗМОЖНОСТИ ОРИГИНАЛЬНОГО МЕТОДА «ОБРАТНАЯ ВОЛНА»****Possibilities of the Original Method "Reverse Wave"****Лехтлаан-Тыниссон Н.П.<sup>1</sup>, Один В.И.<sup>2</sup>**<sup>1</sup> Научно-практический Институт перспективной медицины, г.Санкт-Петербург, РФ, *ipm@bk.ru*<sup>2</sup> Военно-медицинская академия, г. Санкт-Петербург, РФ

Известно, что все биосистемы, в том числе организм человека, в значительном количестве содержат воду и при рассмотрении действия сверхслабых электромагнитных полей (ЭМП) на биообъекты, следует учитывать тот факт, что они являются неравновесными, нелинейными системами. Процессы в таких системах могут существенно изменяться под действием сверхслабых низкочастотных (НЧ) ЭМП. Целенаправленный вызов нужной антистрессорной реакции, в т.ч. под действием ЭМП, с целью оздоровления, профилактики и лечения различных заболеваний был назван «активационной» терапией. Оригинальная методика «Обратная волна» (ОВ) основана на возможности целенаправленного вызова неспецифических адаптационных реакций организма с целью восстановления нарушенного гомеостаза путём воздействия на организм НЧ ЭМП аппаратом дистанционного воздействия. Физиопроцедура проводилась на весь организм с одновременной диагностикой функционального состояния пациента, что позволяет контролировать уровень неспецифической резистентности организма непосредственно во время сеанса. Воздействие осуществлялось НЧ ЭМП аппаратом дистанционного воздействия («Физиотон»), с максимально сниженной интенсивностью излучения. Персонализированный контроль функционального и психофизического состояния пациента проводился с помощью программного комплекса «Цифровой анализатор биоритмов Омега-М», основанного на анализе вариабельности сердечного ритма.

За время применения метода группа врачей, профессионально владевших данным методом, провели более 500 000 человеко-сеансов пациентам различного возраста и с различной степенью тяжести заболеваний. Так у детей отмечена стойкая положительная динамика с такими заболеваниями, как энцефаллопатия, диффузные изменения тканей головного мозга, органическое поражение спинного мозга, поражение ЦНС, эписиндром, задержка психоречевого и физического развития. После первого сеанса снижалась гиперактивность, отмечалось улучшение памяти, речи, произношения звуков. Быстро пополнялся лексикон, ускорялось восприятие учебного материала. В целом было получен существенный терапевтический эффект при лечении людей разного возраста и пола, особенно для оздоровления, для замедления старения, в период полового созревания, в период беременности, при подготовке к операции, в период послеоперационной реабилитации и т.д.

**Клинические примеры:**

1. Мальчик 3., диагноз: иммунная тромбоцитопеническая пурпура. Заболел в 1,5 годовалом возрасте. Наблюдался гематологом, получал соответствующее лечение. В связи с неэффективностью терапии была рекомендована спленэктомия. Родители обратились в институт перспективной медицины (ИПМ), где начал получать лечение по методу ОВ. Через два года лечения лечащим гематологом была установлена стойкая ремиссия.

2. Мальчик С. 13 лет. В анамнезе: при купании в море утонул, был спасен. Диагноз: эпилепсия неуточненной этиологии с редкими полиморфными пароксизмами. Заключение невролога: рассеянная микросимптоматика стволовых образований головного мозга. Ребенок получал противосудорожную терапию. Родители обратились в ИПМ. Проведено 6 сеансов ОВ в течение 11 месяцев. Приступы стали реже, затем совсем прекратились. При плановом обследовании в заключении лечащего невролога: эпилепсия с редкими судорожными припадками в анамнезе. Ремиссия.

Женщина К. 27 лет. Обратилась в ИПМ в мае 2008г. с диагнозом аменорея. Гормонотерапия в женской консультации с положительной динамикой в первый год лечения. После прекращения приёма препаратов месячные прекратились и не возобновлялись даже на фоне интенсивной гормональной терапии. Обратилась в ИПМ. Проведено лечение по методу ОВ. Через год у больной восстановился менструальный цикл, нормализовались уровни в крови гонадотропинов.

1. Довгуша В.В., Лехтлаан- Тыниссон Н.П., Довгуша Л.В. Вода – привычная и парадоксальная. СПб, 2007, 242 с.

2. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Екатеринбург: Филантроп, 2002, 196 с.

3. Один В.И., Лехтлаан-Тыниссон Н.П., Золотарёв А.Д. и др. Индукция ремиссии иммунной тромбоцитопенической пурпуры // *Вестник Военно-медицинской академии*, 2020, № 3, doi: 10.17816/brmma50541.

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РАЗВИТИЯ РАКА ЛЁГКИХ У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ  
ХРОНИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ**  
**Prediction of the Lung Cancer Development in Individuals Exposed to Chronic Low-Dose Ionizing Radiation**

Литвинова О.В.<sup>1,2</sup>, Горина Г.В.<sup>1,2</sup>, Смаглий Л.В.<sup>1,3</sup>, Светлик М.В.<sup>2,3</sup>, Тахауов Р.М.<sup>1,3</sup>, Тахауова Л.Р.<sup>1,3</sup>,  
Латонов В.Р.<sup>3</sup>, Шумилов И.М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Северский биофизический научный центр ФМБА России, г. Северск, РФ, *litvinovaspiridonova@mail.ru*

<sup>2</sup> Томский государственный университет, г. Томск, РФ

<sup>3</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ

Среди наиболее актуальных вопросов медицины и здравоохранения в современном мире важное место занимает проблема рака. Заболеваемость злокачественными новообразованиями (ЗНО) и связанная с ними смертность представляют серьёзную проблему для здравоохранения во всем мире, включая Россию. В последние десятилетия наблюдается устойчивый рост числа новых случаев ЗНО, что связано с увеличением продолжительности жизни, изменением образа жизни и воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды. ЗНО остаются одной из ведущих причин смертности, уступая лишь сердечно-сосудистым заболеваниям. Актуальной международной проблемой является прогнозирование риска развития ЗНО у лиц, подвергшихся действию малых доз ионизирующего излучения. Оценка радиационного риска у населения, обусловленного техногенными источниками облучения в малых дозах, требует учёта различных факторов и применения математических моделей [1, 2].

Посредством пакета прикладных программ Excel, Statistics и StatTech была разработана прогностическая модель расчёта для определения вероятности развития рака лёгких в зависимости от внешнего облучения, возраста на момент облучения, периода облучения, пола, информации о курении, частоты хромосомных aberrаций методом бинарной логистической регрессии.

Для построения прогностической модели использованы данные из регионального медико-дозиметрического регистра Северского биофизического научного центра, который содержит персональные данные, информацию о заболеваемости, смертности, параметрах здоровья, жизненном статусе, профессиональной деятельности, дозиметрической информации жителей г. Северска. Исследование крови на наличие хромосомных aberrаций проводилось на базе лаборатории геномной медицины Северского биофизического научного центра, в которой имеется банк биологического материала населения г. Северска [3].

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100 \%$$

$$z = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_5 + b_6X_6$$

$$b_0 = -28,049; b_1 = 0,054; b_2 = -0,094; b_3 = 3,664; b_4 = 25,661; b_5 = 0,026; b_6 = -0,590,$$

где  $P$  – оценка вероятности риска развития рака лёгких;  $z$  – значение логистической функции;  $e$  – основание натурального логарифма, иррациональная константа, примерно равная 2,71828;  $X_1$  – возраст на момент облучения (годы);  $X_2$  – период облучения (годы);  $X_3$  – пол (ж – 1, м – 2);  $X_4$  – информация о курении (нет – 1, да – 2);  $X_5$  – доза внешнего облучения (мЗв);  $X_6$  – частота хромосомных aberrаций.

Полученная регрессионная модель с точки зрения соответствия прогнозируемых значений наблюдаемым при включении предикторов по сравнению с моделью без предикторов является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Показатель Псевдо- $R^2$  Найджелкерка составил 86,2 %. Чувствительность полученной прогностической модели – 90,9 %, специфичность – 78,9 %. Оценка порогов согласно модели риска развития рака лёгких: высокая вероятность, если  $P \geq 0,79$ ; средняя при  $0,39 \leq P < 0,79$ ; низкая при  $0,11 \leq P < 0,39$ .

Для проверки модели на работоспособность использовалась экзаменационная группа из 301 человека (277 мужчин и 24 женщин), в анамнезе которых не установлен диагноз рака лёгких. Согласно модели высокая вероятность риска развития рака лёгких характерна для 42 человек ( $P \geq 0,79$ ); средняя – для 7 мужчин ( $0,39 \leq P < 0,79$ ) и низкая – для 6 женщин ( $0,11 \leq P < 0,39$ ). Для остальных 246 человек прогностическая модель не выявила риск развития рака лёгких.

Данное научное исследование направлено на выявление возможности прогнозирования рака лёгких у лиц, подвергшихся хроническому воздействию малых доз ионизирующего излучения. Данные, полученные с помощью прогностической модели, позволят улучшить подходы к формированию стратегии охраны и улучшения здоровья населения, подвергшегося воздействию ионизирующего излучения.

1. Губин А.Т., Сакович В.А. Анализ обобщённых моделей радиогенного риска. Часть 2. Модели НКДАР ООН // Радиация и риск, 2016, т. 25, № 4, с. 63-79, doi: 10.21870/0131-3878-2016-25-4-48-62.

2. Губин А.Т., Сакович В.А. Анализ обобщённых моделей радиогенного риска. Часть 1. Модели МКРЗ // Радиация и риск, 2016, т. 25, № 4, с. 48-63, doi: 10.21870/0131-3878-2016-25-4-63-79.

3. Вишневская Т.В., Цыпленкова М.Ю., Исубакова Д.С. и др. Оценка спектра и частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови работников объекта использования атомной энергии на протяжении 15 лет трудовой деятельности // Радиационная гигиена, 2025, т. 18, № 1, с. 18-26, doi: 10.21514/1998-426X-2025-18-1-18-26.



**АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ  
ИЗОМЕТРИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ В РАННЕЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ПОЖИЛЫХ  
ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА**  
**Analysis of Blood Parameters to Assess the Efficacy of Isometric Exercises in Early Rehabilitation of Older  
Patients after Hip Replacement**

**Максимова Е.А.<sup>1,2</sup>, Шевченко В.И.<sup>2</sup>, Савинкин С.Н.<sup>2</sup>, Краснов К.С.<sup>1,2</sup>, Сенотов А.С.<sup>1,2</sup>, Акатов В.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, [maksimova.elena@inbox.ru](mailto:maksimova.elena@inbox.ru)

<sup>2</sup> Больница Пущинского научного центра РАН, г. Пущино, РФ

Важной составляющей в ранней реабилитации (первые две недели после эндопротезирования тазобедренного сустава) являются изометрические упражнения (ИУ), поскольку в это время противопоказаны сильные нагрузки на суставы и динамические упражнения. Особенно это актуально для пожилых пациентов, что связано с возрастными изменениями, наличием сопутствующих заболеваний и высоким риском осложнений. Известно, что выполнение изометрических упражнений вызывает изменение мышечных волокон, влияет на секрецию цитокинов клетками мышечной ткани, кровообращение и массоперенос в мышечной ткани, стимулирует остеогенез, увеличивает мышечную силу и тем самым способны повышать эффективность реабилитации [1]. Для совершенствования программ ранней физической реабилитации пациентов после эндопротезирования тазобедренного сустава (ЭТБС) остается актуальной разработка как самих комплексов упражнений для ранней реабилитации, так и объективных способов оценки их эффективности.

Десять пациентов женского пола в возрасте 73-77 лет были рандомизированы перед началом исследования на две группы по 5 пациентов в каждой. В течение первых 12 дней после ЭТБС пациенты ежедневно выполняли реабилитационные упражнения по стандартному протоколу в контрольной группе и по стандартному протоколу, дополненному комплексом ИУ в экспериментальной группе [2]. Для каждого пациента выполнялись клинический анализ крови, измерения СОЭ, СРБ, показателей мышечной травматизации (миоглобин, АСТ, ЛДГ, КФК) и концентрации провоспалительных интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 в крови за 1 сутки до проведения ЭТБС, а также через 1 и 12 суток после ЭТБС.

Сравнительный анализ по отдельным показателям с использованием критерия Манна-Уитни не выявил достоверного отличия между контрольной и экспериментальными группами вследствие большого разброса данных и малой выборки пациентов. Анализ возвращения отдельных показателей в пределы нормальных значений через 12 суток после ЭТБС с использованием критерия Фишера также не выявил достоверного отличия между двумя группами. В то же время анализ возвращения концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, лейкоцитов и нейтрофилов в пределы нормы в совокупности с использованием критерия Фишера выявил достоверное отличие между группами ( $p=0,037$ ). Различие между контрольной и экспериментальной группами по концентрации указанных интерлейкинов в крови в пределах нормы в совокупности также было статистически достоверно согласно точному критерию Фишера ( $p=0,042$ ).

Указанные интерлейкины, лейкоциты и нейтрофилы являются индикаторами воспаления и имеют схожую динамику возвращения к норме после ЭТБС, что определяет логику их использования в совокупности, в отличие от СРБ и СОЭ.

Таким образом, дополнительные ИУ способствовали устранению послеоперационного воспаления на раннем этапе реабилитации пожилых людей после ЭТБС, что определяет повышение эффективности реабилитационного процесса в целом. Оценка эффективности ранней реабилитации после ЭТБС оказалась возможной только по восстановлению таких показателей воспаления, как концентрации интерлейкинов ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови в пределы нормы в совокупности.

*Работа выполнена в рамках госзадания №075-00223-25-03 и проекта FNSZ-2023-0007 Минобрнауки России.*

1. Максимова Е.А., Шевченко В.И., Акатов В.С. Биофизические основы применения изометрических упражнений в реабилитации пациентов после эндопротезирования // *Биофизика*, 2025, т. 70 (1), с. 198-208, doi: 10.31857/S0006302925010249.

2. Максимова Е.А., Акатов В.С., Шевченко В.И. и др. Заявка на изобретение №2024140224 от 28.12.2024. Способ ранней реабилитации пациентов после эндопротезирования тазобедренного сустава. URL: [https://fips.ru/registers-doc-view/fips\\_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2024140224&TypeFile=html](https://fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2024140224&TypeFile=html).

## К МЕХАНИЗМУ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ: МОДЕЛЬ РЕАКЦИИ ТИМОЦИТОВ НА ЭРИТРОПОЭТИН С УЧАСТИЕМ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ЭЛЕКТРОКАБЕЛЯ

**Towards the mechanism of Nonspecific Stimulation of Lymphocytes: a Model of Thymocyte response to Erythropoietin including the Mitochondrial Electric Cable**

Медведева Д.И., Морозова Г.И., Рыбаков Ю.П.

Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, г. Москва, РФ, *gimorozova@mail.ru*

Неспецифическое действие биологически активных веществ на лимфоциты проявляется в их способности влиять на активность и функциональное состояние клеток, не связываясь с конкретными антигенами. Некоторые белки (пептиды) могут оказывать действие на митохондрии клеток, влияя на их общую функцию и способность к выработке энергии, что связано с их взаимодействием с рецепторами или с общим изменением состояния плазматической мембраны и митохондриального ретикула. Известна роль цитоскелета для обеспечения движения митохондрий по микротрубочкам к энергопотребляющим участкам в клетках, а также для образования контактных митохондриальных комплексов, способных передавать *протонный потенциал* (ПП) по их мембранам как по электрокабелю, что наиболее исследовано для мышечных клеток и фибробластов [1]. В то же время в экспериментах при микроскопии витальных мазков крови в свете флуоресценции потенциал-чувствительного зонда ДСМ<sup>+</sup> выявлены типы лимфоцитов с митохондриальным ретикулом в виде цепочек и компактных образований [2]. Причём, при наблюдении за живыми клетками в крови на термостатированном столике (37°C) обнаружили эффект распространения колебаний желтой флуоресценции зонда по цепи митохондрий у подвижных Т-лимфоцитов. С другой стороны, ранее в серии экспериментах *in vitro* на тимоцитах крыс с помощью ДСМ<sup>+</sup> был исследован стимулирующий эффект гормона эритропоэтина (ЭПО) на энергетику митохондрий в лимфоцитах (из тимуса крыс), наиболее проявляющийся у 25% клеток (типа Т-хелперов) в суспензии, после её инкубации с ЭПО [4]. ЭПО не является специфическим гормоном для лимфоцитов, поэтому предполагаем, что его стимулирующий эффект в тимоцитах сопряжён с запуском генерации ПП в митохондриях, контактирующих с плазматической мембраной лимфоцита.

В свете предыдущего в данной работе решается актуальная задача – моделирование процесса неспецифической стимуляции тимоцитов эритропоэтином в зависимости от распространения ПП в системе митохондриального электрокабеля (МЭК). Ранее была предложена модель автоволнового процесса в мышечных волокнах с учётом распространения ПП в МЭК кардиомиоцитов [3]. По аналогии в данной работе предполагаем, что электромеханическое сопряжение в ЭПО-стимулированном лимфоците связано с сокращениями микрофиламентов цитоскелета клетки, кратковременный автоволновой характер которых обеспечивается периодической волной изменения ПП в сети МЭК синхронно с перераспределением кальция между эндоплазмой, митохондриями и цитозолем в лимфоците [4,5]. На основе решения телеграфного уравнения оценены показатели затухания волны ПП при заданных параметрах митохондрий в Т-лимфоците. Из наших оценок на базе экспериментальных данных [4] следует, что для запуска волны сокращений после ЭПО-сигнала в Т-лимфоците необходимо наличие хотя бы двух контактных митохондрий вблизи рецепторной зоны внешней мембраны и система МЭК из 6 митохондрий с суммарной энергией порядка 102 кДж/моль. Примерно такая энергия АТФ требуется для активации двух кальциевых насосов в мембране [6].

Важно отметить, что данные экспериментов [4] указывают на существенную зависимость эффективности ЭПО-стимуляции лимфоцитов от исходного энергетического статуса клеток, который для Т-лимфоцитов предопределяет состояние тимуса, сопряжённого и с физиологическим состоянием организма.

1. Арамичева П.А., Андрианова Н.В., Бабенко В.А. и др. Митохондриальная сеть: электрический кабель и многое другое // Биохимия, 2023, т. 88, № 10, с. 1926-1939, doi: 10.31857/S0320972523100147.
2. Морозова Г.И., Онищенко Н.А., Оржеховская И.Г. и др. Микрофлуорометрический метод идентификации и оценки физиологического состояния лимфоцитов и нейтрофилов в цельной нативной крови с помощью флуоресцентного зонда-катиона ДСМ (в эксперименте и клинике) // Гематология и трансфузиология, 1997, т. 42, № 3, 43-47.
3. Рамазанова Ж.А., Морозова Г.И. Моделирование автоволнового процесса на поверхности сердца с учётом митохондриальных электрокабелей // Труды XLVI Всероссийской конференции по проблемам математики, физики, химии, 2010, с. 13.
4. Morozova G.I., Parkhomenko T.V., Klitsenko O.A., Tomson V.V. Stimulating effect of erythropoietin on thymocyte energetics established in vitro with a potential-sensitive fluorescent probe in the mitochondria // Biochem. Suppl. Series A: Membr. Cell Biology, 2007, vol. 1, no. 4, pp. 325-330, doi: 1134/S1990747807040083.
5. Лычковская Е.В., Труфанова Л.В., Белова О.А. и др. Роль митохондрий в регуляции кальциевой сигнализации лимфоцитов // Сибирское медицинское обозрение, 2016, № 5, с. 5-14.
6. Владимиров Ю.В. Кальциевые насосы живой клетки // Соровский образовательный журнал, 1998, № 3, с. 20-27.

## СОЕДИНЕНИЕ СК-0944666 ОСЛАБЛЯЕТ СТИМУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ГЛУТОКСИМА НА ТРАНСПОРТ $\text{Na}^+$ В ЭПИТЕЛИИ КОЖИ ЛЯГУШКИ

Compound СК-0944666 Attenuates the Stimulative Effect of Glutoxim on  $\text{Na}^+$  Transport in Frog Skin Epithelium

Мельницкая А.В.<sup>1</sup>, Крутецкая З.И.<sup>1</sup>, Антонов В.Г.<sup>2</sup>, Бельтов М.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, [a.melnitskaya@spbu.ru](mailto:a.melnitskaya@spbu.ru);

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург, РФ

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, г. Санкт-Петербург, РФ

Исследование механизмов трансэпителиального транспорта веществ является интенсивно развивающимся направлением современной биофизики, физиологии и медицины. Классическими модельными объектами для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны являются кожа и мочевой пузырь амфибий. По способности к транспорту электролитов и реакции на некоторые гормоны кожа и мочевой пузырь амфибий сходны с дистальными отделами почечных канальцев, что позволяет использовать данные, получаемые на этих объектах, для выяснения механизмов трансэпителиального транспорта воды и ионов в клетках почки [1]. В последние годы значительно возрос интерес к работе окислительно-восстановительных систем клеток и их влиянию на различные процессы в норме и при патологии. Ранее нами впервые было показано, что транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки модулируется различными окисляющими агентами, такими как цистамин, цистин, окисленный глутатион (GSSG) и его синтетический аналог препарат глутоксим® (динатриевая соль GSSG с нанодобавкой d-металла; «ФАРМА – ВАРМ», Санкт-Петербург) [2]. Впервые обнаружено, что GSSG и глутоксим, приложенные к базолатеральной поверхности кожи лягушки, имитируют эффект инсулина и стимулируют трансэпителиальный транспорт  $\text{Na}^+$ . Известно, что актиновый цитоскелет участвует в регуляции трансэпителиального транспорта  $\text{Na}^+$  и активности многих  $\text{Na}^+$ -транспортирующих белков, которые локализованы с актиновыми филаментами и актин-связывающими белками (анкирином и спектрином). Ранее нами было показано, что транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки зависит от структурно-функциональной организации актинового и тубулинового цитоскелета. Обнаружено также, что любые изменения в структуре микротрубочек и микрофиламентов приводят к снижению стимулирующего действия глутоксима на транспорт  $\text{Na}^+$ . Как известно, ключевую роль в нуклеации разветвленной сети актиновых филаментов играет белковый комплекс Arp2/3 (Actin-Related Proteins), состоящий из семи полипептидов. В связи с этим, представлялось интересным исследовать возможное участие Arp2/3 комплекса и реорганизации актиновых филаментов в регуляции глутоксимом транспорта  $\text{Na}^+$  в коже лягушки *Rana temporaria*. В экспериментах использовали ингибитор комплекса Arp2/3 соединение СК-0944666 [3].

Для регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ) кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала. В интервалах между измерениями ВАХ трансэпителиальный потенциал ( $V_T$ ) кожи поддерживали при потенциале открытой цепи  $V_{OC}$  ( $V_{OC} = V_T$  при трансэпителиальном токе  $I_T = 0$ ). Из ВАХ определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания  $I_{SC}$  ( $I_{SC} = I_T$  при  $V_T = 0$ ),  $V_{OC}$  и трансэпителиальную проводимость  $g_T$ . Транспорт  $\text{Na}^+$  оценивали как амilorид-чувствительный  $I_{SC}$ . Число экспериментов,  $n = 10$ . Статистический анализ проводили с применением  $t$ -критерия Стьюдента. Данные представлены в виде  $\bar{x} \pm s_x$ .

Обнаружено, что глутоксим, приложенный со стороны базолатеральной поверхности кожи, стимулирует транспорт  $\text{Na}^+$ . В среднем, изменение электрических характеристик кожи лягушки после добавления 200 мкг/мл глутоксима к базолатеральной поверхности кожи было следующим:  $I_{SC}$  увеличился на  $37,29 \pm 11,14\%$ ,  $V_{OC}$  увеличился на  $40,37 \pm 14,01\%$ , а  $g_T$  – на  $2,12 \pm 0,14\%$ . Показано также, что предварительная обработка кожи СК-0944666 снижает стимулирующее действие глутоксима на транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки. В среднем, изменение электрических характеристик кожи лягушки после добавления 200 мкг/мл глутоксима к базолатеральной поверхности кожи, предварительно обработанной в течение 30 мин со стороны апикальной поверхности 100 мкМ СК-0944666, было следующим:  $I_{SC}$  увеличился на  $21,32 \pm 4,23\%$ ,  $V_{OC}$  – на  $10,21 \pm 3,12\%$ , а  $g_T$  – на  $7,22 \pm 1,03\%$ .

Полученные данные свидетельствуют об участии комплекса Arp2/3 в регуляции глутоксимом транспорта  $\text{Na}^+$  в коже лягушки. Таким образом, полученные нами результаты и данные литературы позволяют рассматривать белковый комплекс Arp2/3 в качестве важного звена, вовлеченного в сигнальные каскады, запускаемые глутоксимом в эпителии кожи лягушки.

1. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. Л.: Наука, 1982, 184 с.

2. Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Melnitskaya A.V. et al. Effect of disulfide-containing agents on the  $\text{Na}^+$  transport in the frog skin // Doklady Biological Sciences, 2008, vol. 421, pp. 235-238, doi: 10.1134/s0012496608040042.

3. Nolen B.J., Tomasevic N., Russell A. et al. Characterization of two classes of small molecule inhibitors of Arp2/3 complex // Nature, 2009, vol. 460 (7258), pp. 1031-1034, doi: 10.1038/nature08231.

**СОЕДИНЕНИЕ (+)-SKF-10047 ПОДАВЛЯЕТ ДЕПОЗАВИСИМЫЙ ВХОД  $\text{Ca}^{2+}$ ,  
ВЫЗЫВАЕМЫЙ ТАПСИГАРГИНОМ, В МАКРОФАГАХ**  
**Compound (+)-SKF-10047 Attenuates Store-Operated  $\text{Ca}^{2+}$  Entry induced by Thapsigargin in Macrophages**

Миленина Л.С.<sup>1</sup>, Крутецкая З.И.<sup>1</sup>, Антонов В.Г.<sup>2</sup>, Крутецкая Н.И.<sup>1</sup>, Бельтов М.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, *l.milenina@spbu.ru*,

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург, РФ, <sup>3</sup>  
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, г. Санкт-Петербург, РФ

Универсальным механизмом регулируемого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в клетки эукариот является депозависимый, или “емкостной”, вход  $\text{Ca}^{2+}$ , активируемый при опустошении внутриклеточных  $\text{Ca}^{2+}$ -депо [1]. Ключевыми молекулярными участниками депозависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  являются  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы Orai1 в плазмалемме и  $\text{Ca}^{2+}$ -сенсор STIM1 в мембране  $\text{Ca}^{2+}$ -депо. При опустошении депо, STIM1 олигомеризуется и транслоцируется в участки эндоплазматического ретикулула, расположенные у плазмалеммы, и прямо взаимодействует с белками Orai1, вызывая депозависимый вход  $\text{Ca}^{2+}$  [1, 2].

Рецепторы сигма-1 – повсеместные многофункциональные лигандрегулируемые молекулярные шапероны в мембране эндоплазматического ретикулула, имеющие уникальную историю, структуру и фармакологический профиль. Эти рецепторы экспрессированы в клетках различных типов, включая иммунные. Выполняя функции шаперонов, рецепторы сигма-1 взаимодействуют с белками-мишенями (ионными каналами, рецепторами в плазмалемме и др.) и модулируют широкий спектр клеточных процессов в норме и патологии, включая процессы  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналикации [3, 4]. Для выявления участия рецепторов сигма-1 в регуляции депозависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в макрофагах, исследовали влияние высокоселективного агониста рецепторов сигма-1, соединения (+)-SKF-10047 [5, 6], на  $\text{Ca}^{2+}$ -ответы, вызываемые ингибитором эндоплазматических  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз тапсигаргином в перитонеальных макрофагах крысы. Соединение (+)-SKF-10047 ((+)-N-аллилнорметазоцина гидрохлорид, алазоцин) является синтетическим опиоидным анальгетиком семейства бензоморфана, имеет анальгетический и нейропротекторный эффекты.

Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar на автоматизированной установке для измерения внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , на базе флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия). Для измерения  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  использовали флуоресцентный зонд Fura-2AM (Sigma-Aldrich, США). Значения  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  рассчитывали по уравнению Гринкевича. Статистический анализ проводили с применением критерия *t* Стьюдента. Достоверными считали различия при  $P \leq 0,05$ .

Впервые обнаружено, что агонист рецепторов сигма-1, соединение (+)-SKF-10047, подавляет обе фазы  $\text{Ca}^{2+}$ -ответов, вызываемых тапсигаргином в перитонеальных макрофагах. Показано, что преинкубация макрофагов с 50 мкМ (+)-SKF-10047 в течение 20 мин до введения 0,5 мкМ тапсигаргина приводит к значительному подавлению как мобилизации  $\text{Ca}^{2+}$  из внутриклеточных  $\text{Ca}^{2+}$ -депо (на  $65,3 \pm 9,1\%$ ,  $n = 7$ ;  $P < 0,05$ ), так и последующего депозависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в клетки (на  $73,2 \pm 9,8\%$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,05$ ), индуцируемых тапсигаргином. Добавление 50 мкМ (+)-SKF-10047 на фоне развившегося входа  $\text{Ca}^{2+}$ , индуцированного тапсигаргином, также вызывает значительное (на  $70,2 \pm 8,9\%$ ,  $n = 12$ ;  $P < 0,05$ ) подавление депозависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в макрофаги.

Полученные нами данные свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в регуляции депозависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в макрофагах и позволяют рассматривать рецепторы сигма-1 в качестве нового регуляторного компонента сигнального комплекса депозависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  в макрофагах. Рецепторы сигма-1 могут влиять на депозависимый вход  $\text{Ca}^{2+}$ , модулируя связывание между основными компонентами белкового комплекса депозависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  – белками STIM1 в мембране эндоплазматического ретикулула и Orai1 в плазмалемме. Результаты могут также способствовать более детальному пониманию молекулярных механизмов фармакологического действия производных бензоморфана и иметь значение для терапии заболеваний, опосредованных нарушением функционирования рецепторов сигма-1.

1. Putney J.W. Store-operated calcium entry: an historical overview // *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2017, vol. 981, pp. 205-214.

2. Prakriya M., Lewis R.S. Store-operated calcium channels // *Physiol. Rev.*, 2015, vol. 95, pp. 1383-1436.

3. Schmidt H.R., Kruse A.C. The molecular function of  $\sigma$  receptors: past, present, and future // *Trends Pharmacol. Sci.*, 2019, vol. 40 (9), pp. 636-654.

4. Aishwarya R., Abdullah C.S., Morshed M. et al. Sigmar1's molecular, cellular, and biological functions in regulating cellular pathophysiology // *Front. Physiol.*, 2021, vol. 12, 705575, doi: org/10.3389/fphys.2021.705575.

5. Su T.-P., Hayashi T., Maurice T. et al. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organellar signaling modulator // *Trends Pharmacol. Sci.*, 2010, vol. 31, pp. 557-566.

6. Navarro J.F., Beltran D., Cavas M. Effects of (+) SKF 10,047, a sigma-1 receptor agonist, on anxiety, tested in two laboratory models in mice // *Psicothema*, 2012, vol. 24, pp. 427-430.

## СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС НА ОСНОВЕ ОКСИГИДРОКСИДА АЛЮМИНИЯ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ МАРКЕРОВ

### Supramolecular complex based on aluminum oxyhydroxide and fluorescent markers

Могильная О.А., Ронжин Н.О., Посохина Е.Д., Бондарь В.С.

Институт биофизики СО РАН, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск, РФ, [ol\\_mog@mail.ru](mailto:ol_mog@mail.ru)

В настоящее время большое количество исследований посвящено разработке и созданию разнообразных аналитических тест-систем и систем визуализации на основе нано- и микрочастиц разной физико-химической природы и различных маркерных молекул (в том числе, обладающих флуоресценцией). Одним из перспективных носителей (матриц) для иммобилизации маркерных соединений является оксигидроксид алюминия (бёмит), обладающий высокими адсорбционными и антибактериальными свойствами. Данный минерал представляет практический интерес для использования в различных областях: медицине, косметологии, клеточной биологии, конструировании композитных материалов [1, 2].

В работе представлены результаты создания супрамолекулярного флуоресцентного комплекса на основе частиц оксигидроксида алюминия (матрица) и разных биомолекул, обладающих флуоресценцией (метки). В качестве модельных флуоресцентных меток были выбраны биомолекулы, существенно различающиеся физико-химическими характеристиками. Низкомолекулярной модельной меткой являлся флуорофор (молекулярная масса 0,46 кДа) из базидиального гриба *Neonothopanus nambi*, имеющий максимум световой эмиссии в синей области спектра (440 нм) при возбуждении длиной волны 360 нм [3]. Следует заметить, что излучающие свет в синей области спектра природные флуорофоры не столь широко представлены в аналитике, по сравнению с маркерами, флуоресцирующими в длинноволновой области спектра, и представляют большой интерес для исследователей. В качестве высокомолекулярной модельной метки в экспериментах был использован рекомбинантный зеленый флуоресцентный белок GFP (молекулярная масса 26,9 кДа), имеющий максимум световой эмиссии в зеленой области спектра (500 нм) при возбуждении длиной волны 455 нм.

Экспериментально установлено: обе использованные в работе метки (синий флуорофор из гриба *N. nambi* и GFP) прочно связываются с частицами оксигидроксида алюминия и не элюируются с поверхности носителя при промывке деионизированной водой; иммобилизованные на частицах бёмита флуоресцентные маркеры проявляют функциональные свойства и обеспечивают флуоресценцию супрамолекулярного комплекса носитель-метки с максимумами эмиссии в синей и зеленой областях спектра, соответственно (рис. 1).

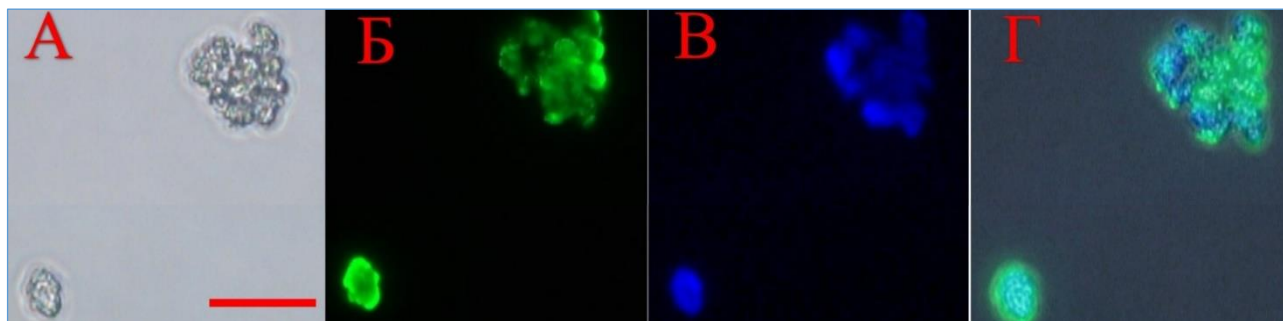


Рисунок 1. Внешний вид агрегатов частиц супрамолекулярного комплекса носитель (бёмит) – флуоресцентные метки (GFP и синий флуорофор из гриба *N. nambi*): А – светлое поле, Б, В – режимы зеленой (GFP) и синей (грибной флуорофор) флуоресценции, Г – слияние флуоресцентных изображений. Масштаб – 10 мкм.

Изображения получены с помощью светового микроскопа Axio Imager M2 (Carl Zeiss, Германия)

Таким образом, на примере частиц оксигидроксида алюминия (бёмит) и природных флуорофоров, различающихся физико-химическими свойствами и максимумами световой эмиссии, показана возможность создания нового класса супрамолекулярных комплексов (нано- и микрообъектов с комбинированной флуоресценцией) для применения в качестве флуоресцентных маркеров в аналитике и клеточной биологии.

1. Киенская К.И., Кузовкова А.А., Марченко И.Н. Синтез и некоторые области применения гидрозолей бёмита // Научные ведомости. Серия Естественные науки, 2014, № 3, вып. 26, с. 114-118.

2. Zijia Li, Li He, Weiliang Tian, et al. Batch and fixed-bed adsorption behavior of porous boehmite with high percentage of exposed (020) facets and surface area towards Congo red // Inorganic Chemistry Frontiers, 2021, vol. 8, no. 3, pp. 735-745, doi: 10.1039/D0QI01253J.

3. Ronzhin N.O., Posokhina E.D., Mogilnaya O.A., Bondar V.S. A stimulator of light emission of the luminous fungus *Neonothopanus nambi* // Asian Journal of Mycology, 2024, vol. 7, no. 1, pp. 86-98, doi: 10.5943/ajom/7/1/7.

## КОНФОРМАЦИОННЫЕ ЦИС- И ТРАНС- ПЕРЕХОДЫ В ИК СПЕКТРАХ БЕГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

### Conformational Cis- and Trans- Transitions in the IR Spectra of Behenic Acid

Москвитин М.Д.<sup>1</sup>, Бабков Л.М.<sup>2</sup>, Ларионов А.В.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А., г. Саратов, РФ

<sup>2</sup> Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, РФ, [moskvitinmixail@mail.ru](mailto:moskvitinmixail@mail.ru)

В ИК спектрах бегеновой кислоты, измеренных в интервале температур 11–365 К, обнаружены различия, которые предположительно могут быть обусловлены конформационными изменениями и динамикой водородной связи [1-3]. С целью обоснования выдвинутых предположений методом теории функционала плотности B3LYP/6-31G(d) [4] построены структурно-динамические модели цис- и транс- конформеров димеров бегеновой кислоты (рис. 1).

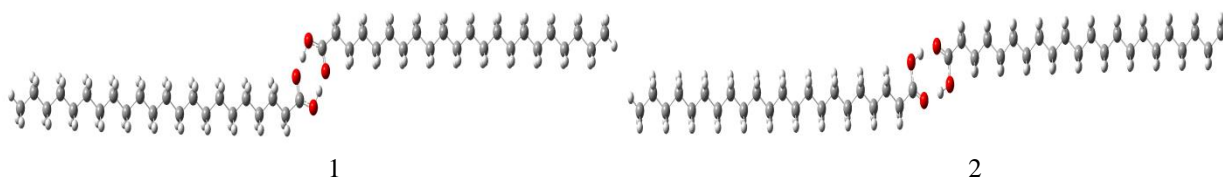


Рисунок 1. Строение димеров бегеновой кислоты

Проведен анализ рассчитанных ИК спектров мономеров и димеров бегеновой кислоты. Расчианные ИК спектры цис - (2, 5) и транс-конформера (3, 5) в области 400-1200 см<sup>-1</sup>, 1200-2000 см<sup>-1</sup> и 2400-3600 см<sup>-1</sup> приведены на рисунке 2. Их Анализ указывает на различия в интенсивностях для цис- и транс-конформеров. Это особенно наглядно проявляется в области 1200-1400 см<sup>-1</sup> (область С-С-Н, О-Н-О колебаний), и в области 2800-3100 см<sup>-1</sup> (область С-Н колебаний).

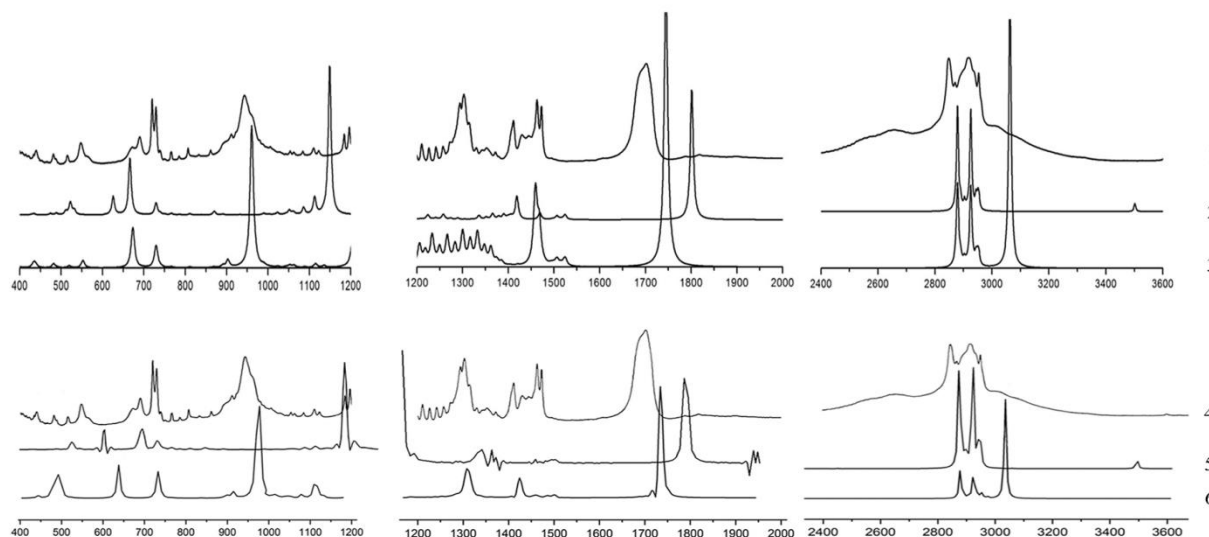


Рисунок 2. Измеренные (1,4) и рассчитанные (2-цис-мономер,5-транс-мономер; 3-цис-димер,6-транс-димер) ИК спектры молекулы бегеновой кислоты

На основе результатов построения структурно-динамических моделей мономеров и димеров молекулы бегеновой кислоты можно сделать выводом том, одна из причин температурных изменений ИК спектров заключена в изменении динамики водородной связи при *цис-транс*-переходе.

1. Бабков Л.М., Пучковская Г.А., Макаренко С.П., Гаврилко Т.А. ИК спектроскопия молекулярных кристаллов с водородной связью. Киев: Наукова Думка, 1989, 160 с.

2. Бабков Л.М., Ведяева Е.С., Пучковская Г.А. ИК спектры, полиморфизм и межмолекулярное взаимодействие в карбоновых кислотах // Журн. структ. химии, 2001, т. 42, № 1, с. 40-46.

3. Бабков Л.М., Гнатовская В.И., Ковнер М.А. и др. Теоретическое и экспериментальное изучение ИК спектров н-карбоно-вых кислот в различных кристаллических модификациях. I. Расчет частот и форм нормальных колебаний молекул-димеров // УФЖ, 1977, т. 22, № 7, с. 1154-1163.

4. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. Gaussian03, Revision B.03; Gaussian, Inc., Pittsburgh PA. 2003. 302 p.

# ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ЦИТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ РЕСВЕРАТРОЛА И ЦИКЛОАСТРАГЕНОЛА НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

## Study of Mechanisms of Cytoprotective Action of Resveratrol and Cycloastragenol on Human Lymphocytes

Наквасина М.А.<sup>1</sup>, Холявка М.Г.<sup>1,2</sup>, Артюхов В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, [nakvasina\\_ma@mail.ru](mailto:nakvasina_ma@mail.ru)

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Изучение процессов клеточной гибели и клеточного старения, разработка способов их регулирования - одна из центральных проблем медицинской биофизики. Ионизирующее излучение, УФ-свет, активные формы кислорода – факторы, вызывающие стресс-индуцированное старение и гибель клеток, в том числе иммунцитов. В настоящее время в качестве потенциальных цито- и геропротекторов активно исследуются различные природные соединения, проявляющие антиоксидантную, сенолитическую активность, выступающие в роли регуляторов сигнальных путей, адаптогенов. В этой связи нами исследовано цитопротекторное и антиоксидантное действие ресвератрола ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  моль/л) и циклоастратегенола ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$  моль/л) на лимфоциты человека в условиях воздействия УФ-света (254 нм, 1510 Дж/м<sup>2</sup>) и пероксида водорода ( $10^{-5}$  моль/л).

Выявлено статистически значимое снижение уровня повреждений ДНК (маркерного показателя апоптоза) иммунцитов, модифицированных УФ-облучением и пероксидом водорода в присутствии ресвератрола и циклоастратегенола, по сравнению с таковым в отсутствие биогенных соединений.

Установлено, что цитопротекторное действие ресвератрола и циклоастратегенола на лимфоциты обусловлено снижением уровня продукции внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) и ионов кальция, повышением активности каталазы и глутатионредуктазы, увеличением пероксидной резистентности плазматических мембран, собственной антирадикальной активностью и взаимодействием биогенных агентов с ДНК.

Повышение активности каталазы в модифицированных лимфоцитах в присутствии биогенных соединений приводит, по всей вероятности, к снижению уровня пероксида водорода и других внутриклеточных АФК. Активация глутатионредуктазы в иммунцитах после воздействия пероксида водорода и УФ-облучения клеток в присутствии ресвератрола и циклоастратегенола индуцирует процессы восстановления глутатиона – низкомолекулярного антиоксиданта, модулятора путей митогенактивируемой протеинкиназы (МАРК), участвующей в запуске апоптоза. Уменьшение уровня АФК в цитозоле, снижение интенсивности окислительной модификации белковых и липидных компонентов митохондриальных мембран и их стабилизация – один из путей ингибирования митохондриального механизма апоптоза.

Снижение уровня свободных ионов кальция в цитозоле иммунцитов в присутствии ресвератрола и циклоастратегенола, обусловленное, вероятно, ингибированием входа  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку из среды и его депонированием в ЭПР, приводит к «выключению» кальций-зависимых процессов реализации апоптотической гибели.

С использованием проточно-цитометрического метода анализа обнаружено снижение количества апоптотических клеток через 4 ч после УФ-облучения в присутствии циклоастратегенола ( $10^{-8}$  моль/л) по сравнению с таковым для свободных фотомодифицированных иммунцитов. При использовании циклоастратегенола в конечной концентрации  $10^{-5}$  моль/л, ресвератрола ( $10^{-7}$ ,  $10^{-5}$  моль/л) не выявлены статистически достоверные отличия от контроля уровня фосфатидилсерин-позитивных клеток в условиях УФ-облучения и действия пероксида водорода.

Цитопротекторное и апоптоз-ингибирующее действие циклоастратегенола связано и с повышением концентрации оксида азота в лимфоцитах до уровня 50 нмоль/л, при котором проявляются антиапоптотические эффекты NO.

Ресвератрол и циклоастратегенол оказывают сходные защитные эффекты на лимфоциты человека, так как действуют на общие внутриклеточные мишени, в частности, 5'-аденозинмонофосфат-активируемую протеинкиназу (АМРК) и сиртуин 1 (SIRT1), регулирующие процессы функционирования p53, антиоксидантных ферментов, антиапоптотических белков. Ресвератрол может проявлять защитный эффект на лимфоциты в условиях УФ-облучения и пероксида водорода, выступая в качестве сеноморфика, предотвращающего оксидативный стресс и негативное воздействие активных форм кислорода на соседние клетки.

Полученные результаты могут использоваться при обсуждении вопросов, касающихся разработки новых способов регулирования процессов клеточной гибели и старения иммунцитов, а также выявления механизмов цитопротекторного действия ресвератрола и циклоастратегенола.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект № FZGU-2023-0009.*



**ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ  
ДИМЕРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ  $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНА И ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНА**  
**Photochemical Properties of Supramolecular Systems Based on Dimeric Derivatives  $\beta$ -cyclodextrin and  
Tetraphenylporphyrin**

**Нерсисян Э.С.<sup>1</sup>, Клименко И.В.<sup>1</sup>, Лобанов А.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, *inna@deom.chph.ras.ru*

<sup>2</sup> Московский педагогический государственный университет, г. Москва, РФ, *avlobanov@mail.ru*

5,10,15,20-тетрафенилпорфирин (ТФП) – перспективный фотосенсор, чье практическое применение ограничено его гидрофобностью, а также агрегацией в водной среде. Для решения этой проблемы нами были применены вспомогательные вещества –  $\beta$ -циклодекстрины ( $\beta$ -ЦД), которые посредством инкапсулирования и образования комплекса «хозяин-гость» способствуют повышению растворимости ТФП в гидрофильной среде и предотвращают его самоассоциацию [1]. В настоящей работе проведено сравнительное исследование комплексообразования ТФП с  $\beta$ -ЦД и его димерным производным – ди-6,6'-дидезокси-6,6'-(гексан-1,3'-диилдиамин)- $\beta$ -циклодекстрин йодидом (ГД $\beta$ -ЦД).

Супрамолекулярные комплексы были получены капельным титрованием: к раствору ТФП в диметилформамиде (ДМФА) постепенно добавлялись водные растворы  $\beta$ -ЦД и ГД $\beta$ -ЦД.

Регистрация спектров оптического поглощения и флуоресценции систем проводилась с помощью UV-Vis спектрофотометра TU-1901 (фирма "Beijing Purkinje General Instrument Co, Ltd", Китай) и спектрофлюориметра «Панорама» (фирма «Люмэкс», Россия). Анализ плохо разрешенных спектров поглощения проводили на основе разложения его на гауссовы составляющие.

Обработка полученных данных свидетельствует о взаимодействии ТФП и циклодекстринов и образовании комплексов посредством переноса молекул ТФП в новое микроокружение, создаваемое полостями циклодекстринов.

Для количественной оценки стабильности комплексов были рассчитаны константы связывания  $K_b$  по уравнению Бенези-Хильдебранда (1) [2] и константы тушения флуоресценции  $K_{SV}$  по уравнению Штерна-Фольмера (2) [3].

$$\log \frac{A_i A_0}{A_f - A_0} = \log[C] + \log K_b, \quad (1)$$

где  $A_0$ ,  $A_i$ ,  $A_f$  – оптическая плотность в отсутствии, при промежуточном и при насыщенном содержании циклодекстрина;  $[C]$  – промежуточная равновесная концентрация добавленного циклодекстрина;  $K_b$  – константа связывания.

$$\log \frac{I_0}{I_i} = \log[C] + \log K_{SV}, \quad (2)$$

где  $I_0$ ,  $I_i$  – интенсивность флуоресценции в отсутствии и при промежуточном содержании циклодекстрина;  $[C]$  – промежуточная равновесная концентрация добавленного циклодекстрина;  $K_{SV}$  – константа Штерна-Фольмера.

Посредством построения графиков аппроксимации были установлены значения логарифмов констант связывания для систем ТФП– $\beta$ -ЦД  $\log K_b = 4,65$  и ТФП–ГД $\beta$ -ЦД  $\log K_b = 4,29$ . Они имеют близкие значения. Аналогичная тенденция наблюдалась и для констант Штерна-Фольмера. Согласно графикам можно выделить два этапа комплексообразования и две константы. Для системы ТФП– $\beta$ -ЦД  $\log K_{SV} = 1,37 \cdot 10^4$  и  $8,47 \cdot 10^6$  л/моль, а для системы ТФП–ГД $\beta$ -ЦД  $\log K_{SV} = 2,74 \cdot 10^4$  и  $2,7 \cdot 10^7$  л/моль, что указывает на высокую степень связывания.

Таким образом, несмотря на наличие двух связанных полостей, димерная структура не приводит к существенному увеличению стабильности комплекса с ТФП. По-видимому, процесс комплексообразования в каждом случае первоочередно зависит от инкапсулирования одного связываемого центра ТФП. Вклад инкапсуляции второго нивелируется стерическими факторами или не вносит значительного вклада в процесс взаимодействия.

1. Fourmentin S., Crini G., Lichtfouse E. Cyclodextrin fundamentals, reactivity and analysis // Springer, 2018, vol. 16.

2. Benesi H.A., Hildebrand J.H. A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons // Journal of the American Chemical Society, 1949, vol. 71, no. 8, pp. 2703-2707.

3. Gehlen M.H. The centenary of the Stern-Volmer equation of fluorescence quenching: From the single line plot to the SV quenching map // Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 2020, vol. 42, p. 100338.



## ПРОЕКТИРОВАНИЕ И ОЦЕНКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ АЗОЛОТРИАЗИНОВ Design and Evaluation of Physicochemical Parameters of Azolotriazine-Based Fluorescent Dyes

Плешкова М.Н., Черных Ю.А., Вандышев Д.Ю., Антипов С.С.

Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, *mpleskova14@gmail.com*

Флуоресцентные зонды – обширный класс органических соединений, нашедший широкое применение в различных областях биологии. Основным вектором их практического применения является решение ряда специфических задач, а также исследование не флуоресцирующих или слабо флуоресцирующих веществ. В этой связи актуальной проблемой современной науки является синтез новых флуоресцирующих соединений, удовлетворяющих требованиям исследователей.

В рамках нашей работы проводилось проектирование, а затем синтез флуоресцентных красителей на основе азолотриазинов. На рисунке 1 можно наблюдать некоторые из полученных нами структур:

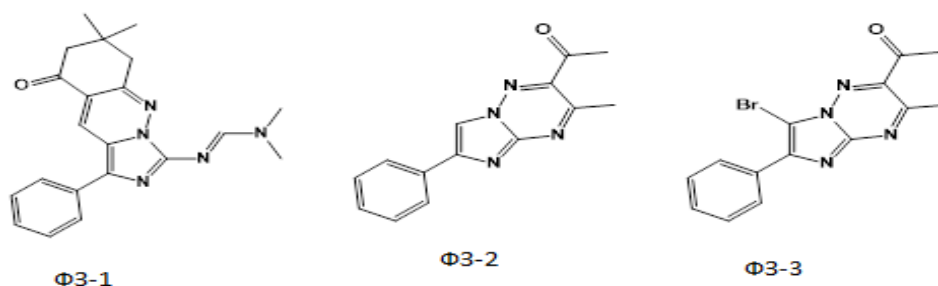


Рисунок 1. Красители на основе азолотриазинов, полученные в результате химического синтеза

Далее нами проводилась оценка спектральных и флуоресцентных характеристик полученных соединений. На рисунке 2 в качестве примера представлены спектры поглощения и испускания ФЗ-1 (флуоресцентный зонд № 1):

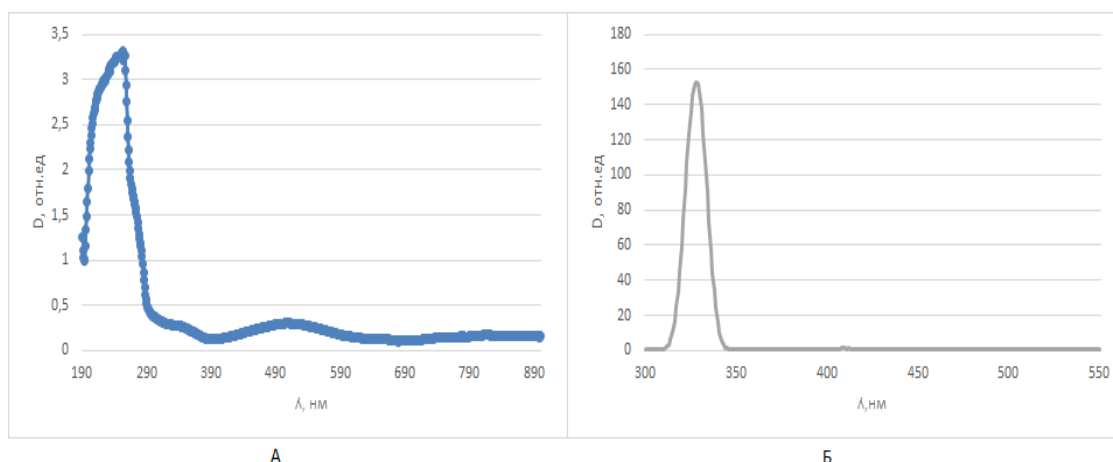


Рисунок 2. Спектр поглощения (А) и испускания (Б) ФЗ 1

В ходе дальнейших исследований планируется оценка потенциальной специфичности синтезированных красителей к биомакромолекулам.

**ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СКАТТЕРОГРАММЫ СЕРДЕЧНОГО РИТМА В УСЛОВИЯХ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ У КРЫС****Dynamic Changes in the Cardiac Rhythm Scattergram under Conditions of Hemodynamic Pulmonary Edema in Rats****Преображенский Н.Д., Сидоров А.Е., Фатеев М.М., Порсева В.В.**Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль, РФ, *ndpreobrazhenskiy@mail.ru*

Ранее нами установлено, что развитие гемодинамического отека легких по данным спектрального анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) сопровождается преимущественно активацией симпатической нервной системы, а по результатам временного анализа ВСР – выраженным напряжением центральных регуляторных механизмов с симпатикотонией и парасимпатикотонией, снижением и ограничением адаптационных функциональных возможностей организма крысы [1]. Одним из методов геометрического анализа ВСР является ритмография, которая представляет собой метод графического отображения последовательных кардиоинтервалов в двухмерной плоскости, что обеспечивает визуализацию и количественную оценку динамики сердечного ритма под воздействием регуляторных систем организма и позволяет оценить динамику включения автономной и центральной нервной системы вплоть до развития патологических состояний [2]. Цель настоящего исследования состояла в изучении графических показателей вариабельности сердечного ритма с анализом скаттерграмм у наркотизированных крыс интактных и при развитии гемодинамической формы отека легких.

Исследование выполнено на взрослых самцах крыс Wistar массой 200-220 г под общей анестезией нембуталом (40 мг/кг) в соответствии с требованиями Этического комитета ФГБОУ ВО ЯГМУ МЗ РФ (протокол № 69 от 13.09.2024 г.). В контрольной группе (n=10) животным вводили 1 мл/кг однократно внутривенно 0,9% раствор хлорида натрия, в опытной – 0,05% раствор норадреналина (AGUETTANT, Франция). Перед введением препаратов и через 10, 30, 45 минут после введения у животных регистрировали ЭКГ с помощью двухканальной электрофизиологической установки (г. Санкт-Петербург), частота дискретизации 4,0 кГц. Запись ЭКГ вели в течение 5 минут в программе L-GRAPH во II стандартном отведении. Расчет площади скаттерграммы ( $EllSq$ ,  $mc^2$ ), отношение ширины к длине ( $EllAs$ , %) и ее графическое изображение выполняли в программе CRGraph. Полученные данные представлены в виде средних и их стандартных ошибок (программа Statistica, версия 12 StatSoft, Inc., 2013, США). Всех животных иммобилизовали путем фиксации в положении на спине на протяжении всего исследования. Эвтаназию всех животных проводили путем декапитации через 50 минут после введения препаратов. В опытной группе макроскопически установлены признаки альвеолярной формы отека легких в виде увеличения размера легких, темно-багрового цвета легочной ткани и наличия розовой пенистой жидкости в верхних дыхательных путях. В контрольной группе у животных легкие без видимых изменений.

Результаты исследования показали, что в состоянии наркоза до введения препаратов у животных средняя площадь скаттерграммы составила в контроле  $192.40 \pm 85.32$ , в опыте –  $220.63 \pm 86.65$ , а  $EllAs$  соответственно  $57.60 \pm 6.35$  и  $55.86 \pm 5.12$ . В контрольной группе у крыс площадь скаттерграммы в течение всего периода наблюдения не изменялась, показатель  $EllAs$  значительно уменьшился только в конце наблюдения на 23% (на 45 минуте). Напротив, в опытной группе у крыс площадь скаттерграммы значительно увеличилась уже на 10 минуте после введения норадреналина – более чем в 3 раза ( $p \leq 0,05$ ), затем уменьшилась на 30 минуте до  $436.87 \pm 102.12$ , оставаясь при этом увеличенной в 2 раза по сравнению с исходным состоянием, что сохранялось и не менялось до конца наблюдения. Показатель  $EllAs$  у крыс опытной группы уменьшился на 10 минуте на 25% и на 45 минуте на 36% по сравнению с исходным состоянием ( $p \leq 0,05$ ).

Результаты ритмографии показали, что после введения норадреналина на 10 минуте отмечается увеличение «облака» скаттерграммы в результате выраженной активации парасимпатической нервной системы с удлинением продолжительности кардиоинтервалов, их вариативности и депрессией генераторной активности проводящей системы сердца. В тоже время, к концу наблюдения (на 45 минуте после введения норадреналина) отмечается увеличение длины «облака» скаттерграммы к ширине, что свидетельствует о смещении вегетативного баланса, уменьшении вагусных и/или преобладании симпатических влияний на сердечный ритм. Более того, на 10 минуте наблюдения модельного эксперимента площадь скаттерграммы увеличивается большей частью за счет ее длины, что свидетельствует о симпатовагальном синергизме.

1. Преображенский Н.Д., Фатеев М.М., Порсева В.В. Анализ изменения активности автономной нервной системы в условиях моделирования гемодинамической формы отека легких // Актуальные исследования висцеральных систем в биологии и медицине: Сборник материалов IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (г. Астрахань, 7-8 ноября 2024 г.) / сост.: Д.Л. Теплый, Е.В. Курьянова, А.В. Трясучев. Астрахань: Астраханский государственный университет, Издательский дом «Астраханский университет», 2024, с. 38-39.

2. Баевский Р.М., Иванов Г.Г. Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения // Ультразвуковая и функциональная диагностика, 2001, № 3, с. 108-127.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭРОЗИЯ ЗУБОВ В СВЕТЕ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА (РФА)

### Experimental Tooth Erosion in the Light of X-Ray Fluorescence Analysis (XRF)

Прокопов А.А.<sup>1,2</sup>, Фулова А.М.<sup>1</sup>

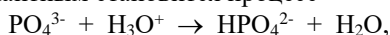
<sup>1</sup> Российский университет медицины Минздрава РФ, г. Москва, РФ, [pral@mail.ru](mailto:pral@mail.ru)

<sup>2</sup> Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, г. Москва, РФ

Эрозивный износ (эрозия, эрозивное стирание) зубов, является современной медицинской проблемой, связанной со здоровьем полости рта, от этой патологии страдает 30-50% населения [1], а для некоторых геохимических провинций приводятся ещё более высокие данные [2]. Эрозия происходит в результате «кислотной атаки» на зуб без участия бактерий, в результате чего искажается минеральная структура тканей зуба, сначала поверхностных, затем более глубоких. Она возникает в результате воздействия на человека пищевых, и в этом смысле, химических, биологических, поведенческих факторов, которые, взаимодействуя между собой, дают разнообразную клиническую картину. Раннее выявление эрозии – актуальная задача для врачей, с учётом того, что на её более поздних стадиях отмечаются болевой синдром, повышенная чувствительность, возникают проблемы функционального и эстетического плана. Знание этиологических факторов эрозивного стирания зубов важно для предотвращения прогрессирования этого заболевания, а также для разработки эффективных профилактических мер. Эрозивный потенциал фруктовых соков, газированных и негазированных безалкогольных и алкогольных напитков в последние годы изучается особенно интенсивно [3], имеется множество публикаций с описанием результатов экспериментов *in vitro* на удалённых зубах, помещённых в разнообразные пищевые жидкости [4], но полной картины по количественному содержанию элементов в зонах эрозии в сравнении с неповреждёнными участками эмали и дентина, в литературе не имеется, хотя польза от такого рода информации существенна, поскольку позволила бы приблизиться к пониманию химической составляющей эрозивного процесса, которая представляет собой совокупность множества обратимых и необратимых реакций, провоцируемых контактирующей жидкой средой.

РФА неоднократно использовался в интересах стоматологии и доказал эффективность в отношении получения новых данных, позволяющих по-новому смотреть на возникновение и развитие патологий, что даёт стоматологу возможность применять для лечения более обоснованные приёмы. Целью настоящего исследования было изучение с помощью данного метода изменения наиболее показательного индекса Ca/P тканей зуба в условиях искусственной эрозии, вызванной различными пищевыми жидкостями с пониженным значением pH.

В качестве экзогенных источников кислотного фактора использовали растворы кислот (молочная, уксусная, соляная), сок лимона, коммерческие напитки (красное сухое вино, Добрый Cola), а также раствор таблеток препарата Ацидин-пепсин, назначаемого при гастритах. Здоровые зубы, удалённые по медицинским показаниям, погружали в исследуемые жидкости на трое суток, после чего оценивали степень произошедшей деминерализации по изменению содержания элементов. Химический состав образцов твёрдых тканей зуба анализировали с использованием рентгенодифракционного спектрометра M4 TORNADO (Bruker). Во всех случаях индекс Ca/P через трое суток пребывания в эрозивной среде значительно увеличился по сравнению с исходными значениями, характерными для неповреждённой эмали. Это прямо указывает на то, что кристаллы апатитов, составляющие эмалевые призмы, при эрозии в первую очередь лишаются фосфатных групп, входящих в ротовую жидкость, с последующей декальцинацией в статусе менее интенсивного вторичного процесса. При эрозии эмаль подвергается прямому воздействию гидратированных протонов из состава разнообразных кислот экзогенного происхождения, т.е. фактически доминантным становится процесс



мотивированный образованием прочного гидрофосфат-иона ( $K_a = 1,26 \cdot 10^{-12}$ ).

Как оказалось, эрозия зубов наступила во всех исследованных жидкостях в пределах физиологических значений pH продуктов пищевого предназначения, причём в широком диапазоне кислотности ( $\Delta \text{pH} = 3,68 - 1,86 = 1,82$ , что отвечает сопоставлению жидкостей с концентрациями протонов, различающимися на два порядка) отсутствует корреляция между степенью кислотности и глубиной эрозивного поражения. При этом статистически соотношение интенсивности дефосфорилирования и декальцинации оказалось практически постоянным, а некоторый разброс снятой информации внутри обследуемой зоны вполне соответствует естественной неоднородности эмали.

1. Крихели Н.И., Пустовойт Е.В., Дарсигова З.Т. и др. Анализ многофакторности развития эрозии зубов // Клиническая стоматология, 2023, т. 26 (1), с. 18-22, doi:10.37988/1811-153X\_2023\_1\_18.

2. Manaf Z.A., Lee M.T., Ali N.H. et al. Relationship between food habits and tooth erosion occurrence in Malaysian University students // Malays. J. Med. Sci., 2012, vol. 19 (2), pp. 56-66.

3. Lopes N., Pereira M., Salgado H. et al. In vitro evaluation of the effect of soft drinks on dental erosion. Revista Portuguesa de Estomatologia // Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial., 2017, vol. 58, doi: 10.24873/j.rpemd.2017.10.024.

4. Inchingolo A.M., Malcangi G., Ferrante L. et al. Damage from Carbonated Soft Drinks on Enamel: A Systematic Review // Nutrients, 2023, vol. 15 (7), p. 1785, doi: 10.3390/nu15071785.

## ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ СТАБИЛИЗИРОВАННОГО МАЛЬТОДЕКСТРИНОМ НАНОРАЗМЕРНОГО ДИОКСИДА ЦЕРИЯ Cytotoxicity and Genotoxicity of Maltodextrin-Coated Nanoceria

Проскурнина Е.В.<sup>1</sup>, Созарукова М.М.<sup>1</sup>, Ершова Е.С.<sup>2</sup>, Савинова Е.А.<sup>3</sup>, Каменева Л.В.<sup>2</sup>, Вейко Н.Н.<sup>2</sup>,  
Иванов В.К.<sup>1</sup>, Костюк С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова РАН, г. Москва, РФ, *proskurnina@gmail.com*

<sup>2</sup> Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, г. Москва, РФ, *es-ershova@rambler.ru*

<sup>3</sup> Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, г. Москва, РФ, *savinova.ekaterina96@yandex.ru*

Наноразмерный диоксид церия известен своими уникальными нанозимными свойствами по отношению к активным формам кислорода, за счет наличия на поверхности редокс-«переключателя». Низкая биodeградируемость и медленное выведение их тканей является препятствием системному применению нано- $\text{CeO}_2$ . Полисахаридные модификаторы являются стабилизаторами коллоидной системы, могут облегчать биodeградируемость, изменять биологические свойства наночастиц, снижать токсичность. Мальтодекстрин, продукт частичного гидролиза крахмала, широко используется как гидрофильный носитель для инкапсуляции различных фармацевтических препаратов, но с диоксидом церия этот модификатор исследуется впервые.

Стабилизированные мальтодекстрином наночастицы диоксида церия (1,5 мкМ) культивировали с эмбриональными фибробластами легких человека в течение 1, 3, 24 и 72 часов. Для определения цитотоксичности использовали стандартный 72-часовой МТТ-тест. Генотоксичность оценивали по уровню 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-охо-dG) как маркера окисления ДНК и фосфорилированных гистонов  $\gamma\text{H2AX}$  как маркера двунитевых разрывов методом проточной цитометрии.

Результаты 72-часового МТТ-теста представлены на рисунке 1А, уровни 8-охо-dG и  $\gamma\text{H2AX}$  относительно контроля при различных временах инкубации представлены на рисунках 1Б и 1В.

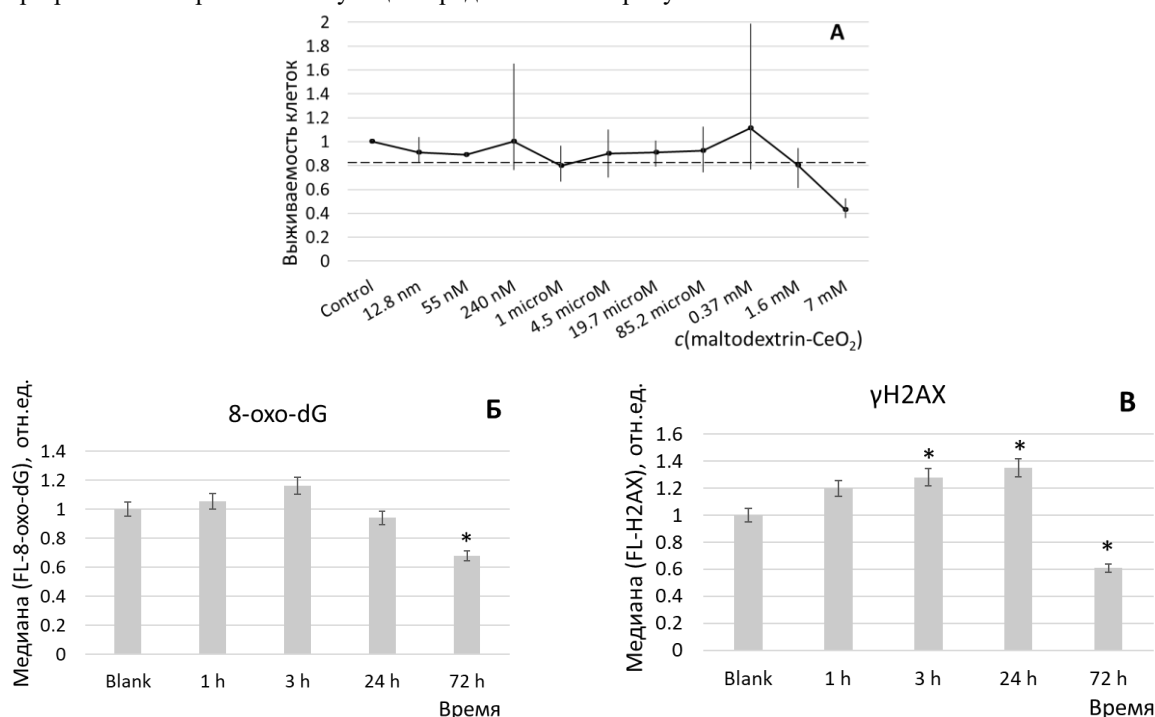


Рисунок 1. (А) Результаты МТТ-теста, пунктир – граница, соответствующая выживаемости клеток 80% и более, по оси ординат отложены значения МТТ-теста относительно контрольного образца (клетки, культивируемые без наночастиц); (Б) уровни 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина, маркера окислительного повреждения ДНК и (В)  $\gamma\text{H2AX}$ , маркера двунитевых разрывов относительно контрольного образца относительно контрольных значений. Значимые различия относительно контроля по критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ) отмечены знаком \*

Исходя из полученных данных можно сделать вывод о том, что стабилизированный мальтодекстрином наноразмерный диоксид церия является безопасным для клеток в широком диапазоне концентраций вплоть до миллимолярных. Стабилизированный мальтодекстрином нано- $\text{CeO}_2$  не вызывает окислительного повреждения ДНК, а даже наоборот, происходит снижение уровня маркера 8-охо-dG через 72 часа инкубации. Умеренное повышение уровня маркера двунитевых разрывов проявляется спустя 3 и 24 ч инкубации, после чего уровень фосфорилированного гистона  $\gamma\text{H2AX}$  снижается ниже контрольных значений в результате активации систем репарации.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 24-25-00088.

# РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИЯ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ MDA-MB-231 И MCF7 С ПОМОЩЬЮ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ЗОЛОТА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ И ЦИТРАТОМ НАТРИЯ

## Radiosensitization of MDA-MB-231 and MCF7 Breast Cancer Cells using Silver and Gold Nanoparticles Stabilized by Cyclodextrin and Sodium Citrate

Пустовалова М.В.<sup>1</sup>, Некрасов В.Д.<sup>1</sup>, Чигасова А.К.<sup>2</sup>, Андреев Е.В.<sup>3,4</sup>, Фадейкина И.Н.<sup>3,4</sup>, Леонов С.В.<sup>1</sup>,  
Нечаев А.Н.<sup>3,4</sup>, Осипов А.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский физико-технический институт, Московская обл., г. Долгопрудный, РФ, [pustovalova.mv@mipt.ru](mailto:pustovalova.mv@mipt.ru)

<sup>2</sup> Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва, РФ

<sup>3</sup> Объединенный институт ядерных исследований, Московская обл., г. Дубна, РФ

<sup>4</sup> Государственный университет «Дубна», Московская обл., г. Дубна, РФ

С возникновением наномедицины использование наночастиц (НЧ) было предложено в качестве перспективного метода для улучшения лучевой терапии при различных видах рака, включая рак молочной железы (РМЖ). Элементы с высоким атомным номером (Z), такие как золото (Au, Z=79) и серебро (Ag, Z=47), обладают более высокой способностью поглощать энергию по сравнению с мягкими тканями и испускают фотоэлектроны, оже-электроны, комптоновские электроны и другие вторичные электроны при воздействии ионизирующего излучения. Эти вторичные электроны непосредственно повреждают молекулы ДНК, а также вступают в реакции с молекулами воды, что приводит к повышенному образованию активных форм кислорода (АФК). Это, в свою очередь, способствует дополнительному увеличению чувствительности опухолевых клеток к воздействию ионизирующего излучения. Таким образом, НЧ, состоящие из элементов с высоким Z, выступают в роли эффективных радиосенсибилизаторов, позволяя не только снизить необходимую дозу облучения для уничтожения опухолевой ткани, но и уменьшить риск развития токсических побочных эффектов в нормальных тканях [1].

В данном исследовании изучается радиосенсибилизирующее действие НЧ серебра (Ag) и золота (Au), стабилизированных  $\beta$ -циклодекстрином ( $\beta$ -CD) и цитратом натрия (Cit), на клетки РМЖ MDA-MB-231 и MCF7. Биосовместимость НЧ оценивалась с помощью анализа гемолиза эритроцитов и оценки жизнеспособности лимфоцитов. Для определения цитотоксического действия синтезированных НЧ клетки РМЖ линий MDA-MB-231 и MCF7 были предварительно обработаны НЧ перед рентгеновским облучением. Продукция АФК оценивалась с использованием флуоресцентного зонда 2',7'-дихлорфлуоресцина диацетата (DCFH-DA). Образование фокусов ключевых белков репарации двухцепочечных разрывов ДНК,  $\gamma$ H2AX и 53BP1, количественно определялось через 1 час и 24 часа после воздействия облучения в дозе 2 Гр. Жизнеспособность клеток измерялась через 24 часа после воздействия облучения в дозе 2 Гр.

Синтезированные НЧ Ag- $\beta$ -CD, Au- $\beta$ -CD и Au-Cit имели средний диаметр ( $14 \pm 4$ ) нм, ( $17 \pm 5$ ) нм и ( $22 \pm 6$ ) нм, соответственно, и демонстрировали благоприятную биосовместимость с эритроцитами и лимфоцитами человека. Активность АФК, индуцированная НЧ, увеличивалась только в клетках MDA-MB-231, но не в MCF7 после облучения в дозе 2 Гр. Анализ показал, что в клетках MCF7 наибольшее число фокусов  $\gamma$ H2AX и 53BP1 через 1 час после облучения индуцировали НЧ Au- $\beta$ -CD, при этом все обработанные НЧ клетки демонстрировали увеличение числа фокусов через 24 часа после облучения по сравнению с контрольными клетками. Клетки MDA-MB-231, обработанные НЧ Ag- $\beta$ -CD и Au-Cit демонстрировали наибольшее увеличение числа фокусов  $\gamma$ H2AX через 1 час и 24 часа после облучения. Остаточные фокусы 53BP1 наблюдались в этих клетках после обработки НЧ Ag- $\beta$ -CD и Au-Cit через 24 часа после облучения. Обе клеточные линии показали снижение жизнеспособности после обработки НЧ по сравнению с необработанными облученными контролями.

Результаты показывают, что как НЧ серебра, так и НЧ золота могут значительно повысить терапевтическую эффективность лучевой терапии при лечении РМЖ. Выраженные радиосенсибилизирующие эффекты, наблюдаемые с определенными формулами НЧ, подчеркивают их потенциал в качестве дополнительных агентов в протоколах лучевой терапии.

*Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-45-20002, <https://rscf.ru/project/24-45-20002/>).*

1. Gong L., Zhang Y., Liu C. et al. Application of Radiosensitizers in Cancer Radiotherapy // Int. J. Nanomedicine, 2021, vol. 16, pp. 1083-1102, doi: 10.2147/IJN.S290438.

## РИБОКСИН (ИНОЗИН) КАК ЗАЩИТНОЕ СРЕДСТВО ПРИ ВНЕШНЕМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

### Riboxin (Inosine) as a Protective Agent in Case of External Exposure to Ionizing Radiation

Ромодин Л.А., Московский А.А., Никитенко О.В., Бычкова Т.М., Челарская Е.С.

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, г. Москва, РФ, rla2904@mail.ru

В настоящее время одной из наиболее приоритетных задач радиобиологии является поиск безопасных с точки зрения химической токсичности средств фармакологической защиты от действия ионизирующего излучения. Ряд исследователей считает перспективным в данном контексте гипоксантиновый рибонуклеозид рибоксин, также называемый инозином [1, 3, 5].

Настоящая работа посвящена оценке радиозащитных свойств рибоксина в экспериментах на самцах мышей ICR (CD-1), подвергнутых воздействию рентгеновского излучения с использованием установки РУБ РУСТ-М1 при мощности дозы 0,85 Гр/мин.

Мы впервые сравнили радиопротекторные свойства рибоксина и эталонного радиопротектора индралина (использовалась инъекционная форма последнего – смесь с винной кислотой в близком к эквимольному соотношении). Фактор изменения дозы (ФИД) как отношение полуметальных доз излучения на фоне применения препарата к значению для группы облучённого контроля по тесту 30-суточной выживаемости для рибоксина, вводимого внутривенно мышам перед острым облучением, составляет 1,07 против 1,8 для индралина. Таким образом, величина радиопротекторного действия рибоксина в условиях острого внешнего облучения не является достаточной для возможности изолированного применения данного соединения [2].

Далее мы изучили эффект от применения рибоксина на фоне 2-х режимов фракционированного воздействия: 5-ти ежедневных облучений в дозе 1,4 или 2,5 Гр, препарат вводился внутривенно через 15 минут после каждого облучения. В первом случае рибоксин проявил радиосенсибилизирующее действие: интенсивность метаболизма липидных радиотоксинов и гибель мышей были выражены сильнее, чем в группе облучённого контроля.

На фоне облучений в дозе 2,5 Гр (12,5 Гр суммарно) использование рибоксина, наоборот, снизило уровень маркеров окислительного стресса до уровня, в среднем более низкого, чем у интактных животных, повысив выживаемость до 10% к концу периода 30-суточного наблюдения при полной гибели в облучённом контроле.

На основании полученных данных мы предполагаем, что радиомодифицирующее действие рибоксина обусловлено не непосредственным антиоксидантным эффектом, что предполагалось в литературе [3], а эпигенетическим влиянием данного соединения на протеом клеток [6].

Этим мы объясняем и показанное нами снижение выживаемости облучённых мышей до уровня, ниже отмеченного для облучённого контроля, при добавлении рибоксина в фармакологическую схему смягчения острого лучевого синдрома, предполагающую введение медного хлорофиллина перед облучением и обладающую статистически значимым радиозащитным эффектом без рибоксина [4]. Из показанного результата следует вывод, что любые схемы профилактики и лечения лучевой болезни с использованием рибоксина требуют предварительного детального изучения.

*Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-24-00383, <https://rscf.ru/project/23-24-00383/>.*

1. Вернигорова Л.А., Жорова Е.С., Попов Б.А., Парфенова И.М. Совместное профилактическое применение рибоксина и альгисорба при поступлении в желудочно-кишечный тракт крыс 239Pu // Радиационная биология Радиоэкология, 2005, т. 45, № 2, с. 201-206.

2. Легеза В.И., Ушаков И.Б., Гребенюк А.Н., Антушевич А.Е. Радиобиология, радиационная физиология и медицина: Словарь-справочник. – 3-е издание, исправленное и дополненное. СПб: Фолиант, 2017, 176 с.

3. Гудков С.В., Гудкова О.Ю., Штаркман И.Н. и др. Гуанозин и инозин как природные генопротекторы для клеток крови мышей при воздействии рентгеновского излучения // Радиационная биология Радиоэкология, 2006, т. 46, № 6, с. 713-718.

4. Ромодин Л.А., Никитенко О.В., Бычкова Т.М., Родионова Е.Д. Оценка защитного эффекта совместного применения некоторых веществ при остром воздействии ионизирующего излучения на мышей по критерию выживаемости // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2024, т. 178, № 12, с. 687-691, doi: 10.47056/0365-9615-2024-178-12-687-691

5. Hou B., Xu Z.W., Yang C.W. et al. Protective effects of inosine on mice subjected to lethal total-body ionizing irradiation // J. Radiat. Res., 2007, vol. 48, no 1, pp. 57-62, doi: 10.1269/jrr.06067.

6. Srinivasan S., Torres A.G., Ribas de Pouplana L. Inosine in Biology and Disease // Genes (Basel), 2021, vol. 12, no. 4, art. 600, doi: 10.3390/genes12040600.

## МИКРОМЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК HeLa – ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

### Micromechanical Properties of HeLa Cells – Study by Atomic Force Spectroscopy

Рыдин А.Ю., Мутовкин П.А., Ращенкова И.И., Дегтяр А.Д., Мосунов А.А.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [aamosunov@mail.sevsu.ru](mailto:aamosunov@mail.sevsu.ru)

Онкологические заболевания занимают одно из первых мест среди причин смертности в мире [1], что делает актуальными исследования, направленные на улучшение диагностики и оценки эффективности терапии. Изучение микромеханических свойств раковых клеток может быть перспективным направлением в онкодиагностике, поскольку раковые клетки отличаются от здоровых по ряду параметров [2]. В данной работе исследована морфология и адгезия клеток линии HeLa методом атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Клетки HeLa культивировали в полной питательной среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и 1% антибиотиков, при температуре 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> и влажности 90%. Для фиксации клеток применяли 4% раствор формальдегида, обеспечивающий сохранность морфологии при минимальном повреждении. Перед фиксацией клетки трижды промывали раствором DPBS, инкубировали в формальдегиде 20 минут при комнатной температуре, затем выдерживали 10 минут в 3% растворе BSA и вновь трижды промывали DPBS. Более высокие концентрации фиксирующего агента вызывали дегидратацию и деформацию клеток, что подтверждает выбор оптимальных условий.

Сканирование проводилось с помощью атомно-силового микроскопа **Ntegra Aura** в контактном режиме при постоянной силе прижатия кантилевера  $F_{\text{приж}} = 4 \text{ нА}$ , с использованием кантилевера **NSG10/TiN** – с покрытием из TiN толщиной 20-30 нм, длиной балки 100 мкм, шириной 35 мкм, радиусом острия около 35 нм и углом при вершине менее 22°, жёсткостью 5,5 Н/м. Сканирование выполнялось на области 30×30 мкм с разрешением 256×256 точек и скоростью 0,5 Гц. Полученные изображения позволили визуализировать клетки HeLa овальной формы с различными ядрами и неровностями по краям. Для оценки морфометрических параметров был построен профиль сечения по ядрам: диаметр ~2 мкм, высота - 1,1-1,3 мкм, что согласуется с литературными данными и подтверждает корректность протоколов фиксации и сканирования [3].

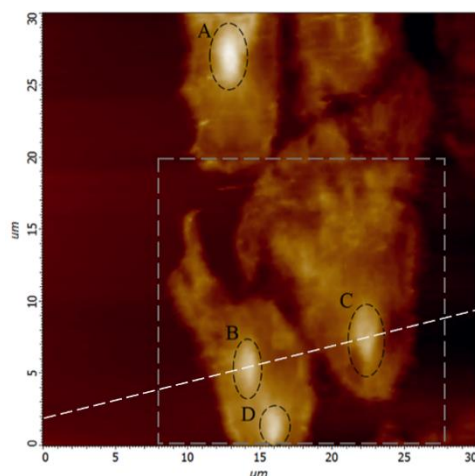


Рисунок 1 Сканы топографии раковых клеток HeLa  
черный пунктир – ядра; серый пунктир – область, в которой проводилась атомно-силовая спектроскопия

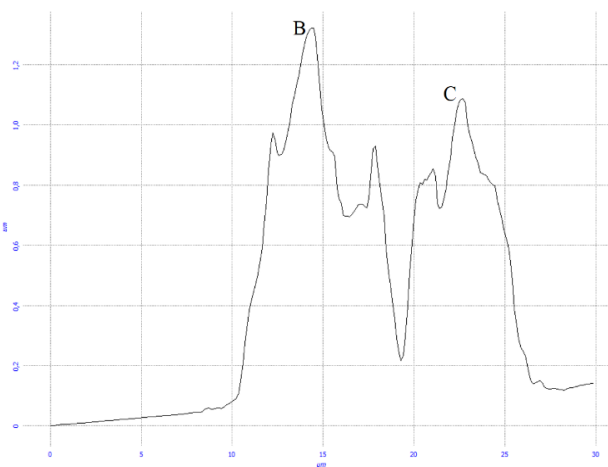


Рисунок 2. Профиль скана вдоль ядер В и С

На выбранной области 10×10 точек (выделена серой рамкой на рисунке 1) проведено АСМ-измерение кривых подвода и отвода кантилевера, для каждой из которых было определено значение  $\Delta z$  и затем посчитано его среднее. Сила адгезии рассчитывалась по закону Гука, при этом значение жесткости кантилевера  $K = 5,5 \text{ Н/м}$ . Полученное значение силы адгезии составило  $F = 114,63 \text{ нН}$ . В дальнейшем данный параметр будет использоваться как контрольный при сравнении с клетками, обработанными наночастицами и химиотерапевтическими агентами.

1. Riley L., Cowan M. Noncommunicable diseases progress monitor 2025. Geneva: World Health Organization; 2025. ISBN 978-92-4-010577-5.

2. Hao Y., Cheng S., Tanaka Y. et al. Mechanical properties of single cells: Measurement methods and applications // *Biotechnology Advances*, 2020, vol. 45, 107648, doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107648.

3. Li Q.S., Lee G.Y.H., Ong C.N., Lim C.T. AFM indentation study of breast cancer cells // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, vol. 374, pp. 609-613, doi: 10.1016/j.bbrc.2008.07.078.

## ВЛИЯНИЕ ФАЗОВЫХ ПЕРЕХОДОВ НА ТРАНСПОРТИРОВКУ МАГНИТНЫХ БИОКЛЕТОК В ПЛЕНКЕ ФЕРРИТА-ГРАНАТА

### Effect of Phase Transitions on Magnetic Biocells Transport in a Ferrite-Garnet Film

Сирюк Ю.А.<sup>1</sup>, Кононенко В.В.<sup>2</sup>, Капшуков Р.А.<sup>1</sup>, Легенький Ю.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Донецкий государственный университет, г. Донецк, РФ, [juliasiryuk@gmail.com](mailto:juliasiryuk@gmail.com)

<sup>2</sup> Донецкий физико-технический институт им. А.А. Галкина, г. Донецк, РФ.

Экспериментально исследовано влияние фазовых переходов, индуцированных магнитным полем в доменной структуре пленки феррита-граната, на транспортировку магнитных биоклеток.

В настоящее время публикуется много работ, связанных с направленной транспортировкой коллоидных частиц по поверхности доменной структуры пленки феррита-граната [1]. Перемещение парамагнитных частиц происходит под влиянием внешних магнитных полей. Но эти поля влияют и на доменную структуру, вызывая в ней фазовые переходы. Такое влияние необходимо учитывать.

Цель работы – изучить особенности поведения парамагнитных коллоидных частиц на поверхности пленки при индуцированных магнитным полем фазовых переходах в доменных структурах.

Результаты исследования могут быть использованы в разных областях науки: в микроэлектронике и спинтронике – запись и хранение информации; в биологии и медицине – направленная транспортировка биологических частиц, т.е. локальное лечение; в химии – сортировка частиц по их размерам. При создании микроустройств можно совместить некоторые области применения.

Для исследования выбрана пленка с развитой поверхностью  $\langle 111 \rangle$ , выращенная методом жидкофазной эпитаксии на гадолиний-галлиевой подложке состава  $(\text{YSmLuCa})_3(\text{FeGe})_5\text{O}_{12}$ . При температуре  $T=300$  К намагниченность насыщения  $4\pi M_S = 258 \cdot 10^{-4}$  Тл, фактор качества  $Q > 5$ . В качестве магнитных частиц используются магнитомаркированные ионами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*. Решетка цилиндрических магнитных доменов (ЦМД) создается импульсным магнитным полем, перпендикулярным плоскости пленки. Доменная структура наблюдается с помощью эффекта Фарадея.

На доменную структуру действует два магнитных поля: 1 – поле смещения  $H_{\text{см}}$  (перпендикулярно плоскости пленки, двух направлений); 2 – циркулярное поле в плоскости пленки. Раствор с биомангнитными клетками наносится на поверхность доменной структуры [2]. Доменная граница генерирует сильный локальный градиент магнитного поля, который оказывает влияние на особенности поведения магнитомаркированных биологических клеток. Биоклетки выстраиваются вокруг границ ЦМД.

Под действием циркулярного магнитного поля биоклетки совершают локальные движения вокруг ЦМД. Такое движение наблюдается в области намагниченности пленки  $4\pi M_S = (\sim 0,1, +0,22)$  как в отсутствие поля смещения, так в его присутствии в пределах  $H_{\text{см}} = (-10 + 45)$  Э.

При  $H_{\text{см}} > 45$  Э, антипараллельном намагниченности внутри ЦМД ( $\uparrow H_{\text{см}}, \downarrow M_S$ ) в решетке ЦМД происходит фазовый переход первого рода; при этом исчезает каждый центральный домен гексагональной упаковки. Биоклетки хаотически распределяются по поверхности доменной структуры.

При увеличении поля смещения, сонаправленным с намагниченностью внутри ЦМД ( $\downarrow H_{\text{см}}, \downarrow M_S$ ), происходит фазовый переход второго рода: каждый ЦМД приобретает форму шестиугольника, а решетка переходит в сотовую структуру. Биоклетки распределяются в вершинах шестиугольных доменов. При дальнейшем увеличении поля смещения ( $H_{\text{см}} > 10$  Э) в сотовой структуре происходит фазовый переход первого рода в новую сотовую структуру. Биоклетки визуализируют и эту структуру.

Доменные границы очень чувствительны к изменению внешнего магнитного поля и температуры. В них происходят фазовые переходы, которые вызывают фазовые переходы в самой доменной структуре. А поскольку доменная граница генерирует сильный градиент локального магнитного поля, то она притягивает к себе магнитные биоклетки, которые визуализируют картину происходящих фазовых переходов.

1. Tierno P. Johansen T.H., Fischer T.M. Localized and delocalized motion of colloidal particles on a magnetic bubble lattice // Phys. Rev. Lett., 2007, vol. 99, doi: 10.1103/PhysRevLett.99.038303.

2. Губарев В.А., Павлов В.Н., Легенький Ю.А., Сирюк Ю.А. Численное моделирование движения парамагнитных частиц над пленкой, содержащей решетку цилиндрических магнитных доменов // Вестник Донецкого национального университета. Серия А. Естественные науки, 2024, № 4, с. 73-82.



## ВЛИЯНИЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА КИСЛОРОД-ТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ ЭРИТРОЦИТОВ

### Effect of Photosensitizers on the Oxygen-Transport Function of Erythrocytes

Слатинская О.В., Максимов Г.В.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ, [slatolya@mail.ru](mailto:slatolya@mail.ru)

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой перспективный нехирургический метод лечения онкологических заболеваний, основанный на способности фотосенсибилизаторов (ФС) генерировать синглетный кислород и другие активные формы кислорода (АФК) под действием света. Эффективность ФДТ напрямую зависит от фотодинамических свойств ФС, включая их способность поглощать свет в диапазоне 650-800 нм и высокий квантовый выход генерации синглетного кислорода. Ввиду этого, производные хлорина, обладающие интенсивной полосой поглощения в дальнекрасной области спектра, представляют особый интерес для разработки новых фотодинамических препаратов. Однако, не смотря на эффективность ФДТ и применения ФС, остается много вопросов, связанных с безопасностью применения ФС при их накоплении в организме. Наши исследования сосредоточены на изучении борированного амида хлорина е6 (BACE) – перспективного фотосенсибилизатора, демонстрирующего высокую фотоцитотоксичность. Предыдущие работы показали, что фотодинамическая активность BACE *in vivo* может быть связана с его повышенной способностью проникать через клеточные мембраны, однако молекулярные основы этого явления оставались неясными [1, 2].

В настоящем исследовании мы провели комплексный анализ взаимодействия BACE с биологическими мембранами на примере эритроцитов человека. Методами инфракрасной спектроскопии (ИК) и комбинационного рассеяния (КР) было показано, что BACE существенно изменяет структурную организацию мембран даже без фотоактивации: снижение упорядоченности липидного бислоя сопровождается увеличением  $\zeta$ -потенциала с -15,23 до -12,54 мВ, что снижает упорядоченность гемоглобина (Гб) и способствует переходу эритроцитов в форму эхиноцитов. Кроме того, BACE вызывает агрегацию эритроцитов при длительной инкубации *in vivo*, что требует дополнительного изучения в контексте возможных побочных эффектов при клиническом применении. Фотоактивация BACE приводит к ряду значимых изменений: обратному переходу эритроцитов в форму дискоцитов, гемолизу вследствие повреждения липидной мембраны и выходу Гб в раствор. Особый интерес представляют обнаруженные конформационные изменения Гб, проявляющиеся в снижении соотношения  $I_{1580}/I_{1375}$  (снижение сродства к кислороду) и увеличении  $I_{1618}/I_{1580}$  (образование комплексов с NO). Эти изменения могут иметь важное значение для понимания влияния ФДТ на кислород-транспортную функцию крови. Кроме того, был проведен сравнительный анализ с поликатионным фотосенсибилизатором, который выявил принципиально разные механизмы действия: если BACE преимущественно влияет на мембранные структуры, то поликатионный фотосенсибилизатор вызывает прямой гемолиз через 30 минут облучения.

Выявленные особенности мембранного действия BACE открывают перспективы для создания более селективных и безопасных фотосенсибилизирующих препаратов. В то же время, обнаруженные эффекты агрегации эритроцитов и изменения функциональных свойств Гб указывают на необходимость тщательного мониторинга гематологических параметров при клиническом применении подобных соединений.

1. Moisenovich M.M., Ol'Shevskaya V.A., Rokitskaya T.I. et al. Novel photosensitizers trigger rapid death of malignant human cells and rodent tumor transplants via lipid photodamage and membrane permeabilization // PLoS ONE, 2010, vol. 5, no. 9, doi: 10.1371/journal.pone.0012717.

2. Nichiporovich I.N., Vadetskaya T.N., Vorobei A.V., et al. Spectral and photosensitizing properties of bacteriochlorin a and its monomethyl and dimethyl esters // Journal of Applied Spectroscopy, 2006, vol. 73, no. 1, doi: 10.1007/s10812-006-0044-x.

## ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ВОЛОСКОВЫХ КЛЕТОК ОТОЛИТОВЫХ ОРГАНОВ

### Physical and Mathematical Modeling of Electrical Stimulation of the Hair Cells in the Otolith Organs

Смаглий Л.В.<sup>1,2,3</sup>, Светлик М.В.<sup>1,2</sup>, Демкин В.П.<sup>1</sup>, Руденко Т.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Томский государственный университет, г. Томск, РФ, [lud.smagly@yandex.ru](mailto:lud.smagly@yandex.ru)

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, РФ

<sup>3</sup> Северский биофизический научный центр ФМБА России, г. Северск, РФ

Нарушение функции вестибулярного аппарата приводит к атаксии, постуральной нестабильности, нистагму, головокружениям, что существенно ухудшает качество жизни пациентов и приводит к инвалидности из-за нарушения ряда вестибулярных рефлексов [1]. Одной из причин вестибулярной дисфункции является недостаточность функции волосковых клеток полукружных каналов и отолитовых органов, связанная, в

частности, с утратой стереоцилий [2]. Отклонение пучков стереоцилий током эндолимфы (в полукружных каналах) или смещением отолитовой мембраны (в утрикуле и саккуле) приводит к открытию каналов механоэлектрической трансдукции, деполяризации мембраны клеток входящим током  $K^+$  и выделению нейромедиатора, приводящего к генерации электрических импульсов определенной частоты в вестибулярных сенсорных нервных волокнах [3].

У человека и других млекопитающих любое нарушение функции волосковых клеток может привести к необратимой потере слуха и вестибулярной чувствительности вследствие неспособности зрелых волосковых клеток млекопитающих к регенерации [4]. Восстановление вестибулярной функции возможно с помощью вестибулярного импланта, обеспечивающего прямую электрическую стимуляцию вестибулярного нерва, либо волосковых клеток. Концепция вестибулярного импланта должна строиться на многоканальной стимуляции вестибулярных нервов, интегрирующих сигналы полукружных каналов и отолитов, что позволит наиболее эффективно стабилизировать вестибуло-глазодвигательные рефлекс и поддержание равновесия [5].

Для оптимизации передаточной функции вестибулярного импланта нами проведено физико-математическое моделирование амплитудно-фазовых характеристик при электрической стимуляции отолитовых органов вестибулярного аппарата. Для построения геометрической модели и эквивалентной электрической схемы сенсорных элементов вестибулярного аппарата были использованы анатомические и электрофизиологические параметры крыс-самцов линии Wistar, полученные с помощью КТ-/МРТ-сканирования. В результате моделирования определена оптимальная конфигурация размещения стимулирующих электродов в ампулах полукружных каналов и вблизи отолитовых органов, измерены импедансы участков эквивалентной электрической схемы замещения вестибулярного лабиринта, вычислены результирующие токи на окончании вестибулярного нерва при подаче стимулирующего напряжения на электроды.

Моделирование электрического ответа отолитовых органов в ответ на электрическую стимуляцию в интервале частот 0 – 5000 Гц позволило выявить резонансные частоты, вызывающие максимальные амплитуды электрического импеданса. Установлено, что для утрикулы имеется три резонансные частоты (230, 1430 и 3290 Гц), и для саккулы – пять резонансных частот (370, 1500, 2575, 3300, 4530 Гц), совпадающих с частотами механических резонансов для соответствующих отолитовых мембран.

1. Шаповалова М.В., Замерград М.В., Гусева А.Л., Байбакова Е.В. Двусторонняя вестибулопатия у пациентов пожилого возраста // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски, 2020, т. 120, № 10-2, с. 16-21.

2. Huang Y., Mao H., Chen Y. Regeneration of Hair Cells in the Human Vestibular System // Front. Mol. Neurosci, 2022, vol. 15, p. 854635, doi: 10.3389/fnmol.2022.854635.

3. Burns J.C., Corwin J.T. A historical to present-day account of efforts to answer the question: “What puts the brakes on mammalian hair cell regeneration?” // Hear. Res., 2013, vol. 297, pp. 52-67.

4. Vélez-Ortega A.C., Freeman M.J., Indzhukulian A.A. et al. Mechanotransduction current is essential for stability of the transducing stereocilia in mammalian auditory hair cells // Elife, 2017, vol. 6, p. e24661.

5. Soto E., Pliego A., Vega R. Vestibular prosthesis: from basic research to clinics // Front. Integr. Neurosci, 2023, vol. 17, p. 1161860, doi:10.3389/fnint.2023.1161860.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ КОНИИНА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕРВНОЙ ТКАНИ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ

### Investigation of the Effect of Coniine on the Physico-Chemical Properties of Nervous Tissue in Case of Damage

Сюсин И.В., Гришин Д.А., Ревин В.В.

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, г. Саранск, РФ, [ilya.sysin@gmail.com](mailto:ilya.sysin@gmail.com)

В современной нейробиологии одной из приоритетных задач является разработка эффективных методов регенерации поврежденной нервной ткани. Особое внимание уделяется исследованию биологически активных веществ природного происхождения, содержащихся в различных лекарственных растениях. Лекарственные растения уже много десятилетий используются в медицинской практике. Биологически активные вещества, которые содержатся в лекарственных растениях, обладают комбинированным эффектом, обеспечивая защиту нервных клеток и способствуя их восстановлению. Такими свойствами обладают вещества, которые относятся к группе алкалоидов. Воздействие различных алкалоидов может как замедлить, так и поспособствовать идущим процессам регенерации повреждённых нервных клеток. Одним из представителей класса алкалоидов является конииин, который в большом количестве может содержаться в Болиголове пятнистом (*Conium maculatum*). По литературным данным конииин обладает ещё и противовоспалительным и обезболивающим свойствами [1]. В связи с этим целью работы являлось исследование действия алкалоидов на физико-химические свойства нервного волокна методом спектроскопии комбинационного рассеяния.

Объектами исследования были использованы самцы взрослых белых крыс линии Wistar со средней массой (350 ± 50) г. В 1-ую экспериментальную группу были включены животные без повреждения седалищного нерва (интактные). У животных 2-ой экспериментальной группы осуществлялась перерезка (нейротомия)

седалищного нерва для создания модели патологического процесса. Животным 3-ей экспериментальной группы, наряду с перерезкой седалищного нерва, ежедневно вводился в место повреждения кониин в концентрации 20 мг/кг. Животных выводили из эксперимента на 7, 14, 21 и 28 сутки. Для оценки действия кониина в процессе регенерации поврежденных нервных волокон был использован метод спектроскопии комбинационного рассеяния. Исследование нервного волокна было проведено на КР-спектрометре in Via Raman Microscope (Renishaw, Англия), длина волны лазера составляла 532 нм. КР-спектры получали в диапазоне частот от 1000 до 3200  $\text{см}^{-1}$ . Для исследования физико-химических свойств нервного волокна были использованы следующие соотношения: 1)  $I_{1650}/I_{1450}$  – отражает степень насыщенности мембраны липидами, возрастает при увеличении степени ненасыщенности жирных кислот в составе липидов; 2)  $I_{2940}/I_{2853}$  – отражает отношение белковой компоненты к липидной, определяется конформационной подвижностью липидов в бислое и уменьшается при увеличении упорядоченности липидов и плотности упаковки жирнокислотных остатков [2].

Значение отношения интенсивностей  $I_{1650}/I_{1450}$  при действии кониина было выше по сравнению с группой животных с повреждением нервного волокна и без введения кониина. Это свидетельствует об увеличении количества ненасыщенных жирных кислот в составе липидов. Такие изменения могут быть связаны с изменением количества двойных связей  $\text{C}=\text{C}$  – они увеличиваются в следствии протекающих процессов регенерации и свидетельствуют о синтезе новых соединений. Анализ соотношений интенсивностей  $I_{2940}/I_{2853}$  показал, что при введении кониина данный показатель увеличивается уже на седьмые сутки эксперимента. Увеличение данного показателя свидетельствует об увеличении текучести мембран и снижении жесткости липидного бислоя, при этом улучшается проницаемость мембраны, это свидетельствует о реорганизации структуры мембраны. Таким образом, увеличение показателя  $I_{2940}/I_{2853}$  отражает переход мембраны в более подвижное, менее упорядоченное состояние, что является важным компонентом процессов восстановления и адаптации клеточной мембраны.

На основании проведенного исследования, полученные результаты демонстрируют перспективность использования кониина в качестве компонента для разработки новых подходов к регенерации поврежденной нервной ткани.

1. Кароматов И.Д., Болтаева З.Ф., Оллокулов З.Б., Хасанзода Б.К. Лечебное и токсикологическое значение растения болиголов пятнистый // Биология и интегративная медицина, 2021, т. 2, № 49

2. Kutuzov N.P., Brazhe A.R., Lyaskovskiy V.L., Maksimov G.V. Laser beam coupling into nerve fiber myelin allows one to assess its structural membrane properties // Journal of Biomedical Optics, 2015, vol. 20 (5), doi: 10.1117/1.JBO.20.5.050501.

## МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ИШЕМИЕЙ АЛЬБУМИН КАК МАРКЕР ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ СТАРЕНИИ

### Ischemia-Modified Albumin as a Marker of Oxidative Stress in Aging

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Тарасова И.В., Кубрикова А.А., Стражеско И.Д., Ткачева О.Н., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ, [teselkin-box@mail.ru](mailto:teselkin-box@mail.ru)

Старение – это прогрессирующий мультифакторный физиологический процесс, который характеризуется нарастанием дегенеративных изменений в тканях и органах, что сопровождается потерей их функций [1]. Механизм старения сложен и до конца не исследован. Полагают, что важную роль в старении играет оксидативный стресс (ОС), который приводит к повреждению биомолекул и клеточных компонентов, развитию протеинопатии, митохондриальной дисфункции, хронического воспаления и, в конечном итоге, возникновению возрастных, или хронических дегенеративных заболеваний [1]. К числу чувствительных маркеров ОС относится модифицированный ишемией альбумин (ischemia-modified albumin – IMA), образование которого происходит в результате *N*-концевой модификации сывороточного альбумина при его взаимодействии с активными формами кислорода (АФК). Однако изменение уровня IMA при старении мало изучено. Цель работы – исследовать содержание IMA в сыворотке крови здоровых людей разных возрастных групп.

Обследован 51 доброволец в возрасте 18–99 лет. Были сформированы три группы: 1-я – молодого возраста ( $n=20$ ; 8 мужчин и 12 женщин), 18–49 лет (средний возраст –  $32,5 \pm 11$  года); 2-я – среднего возраста ( $n=15$ ; 3 мужчин и 12 женщин), 51–68 лет ( $60 \pm 6$  лет); 3-я – пожилого возраста ( $n=16$ ; 3 мужчин и 13 женщин), 73–99 лет ( $84,8 \pm 7$  года). Уровень IMA в сыворотке крови определяли по методу [2], основанному на уменьшении связывания альбумином ионов  $\text{Co(II)}$  вследствие *N*-концевой модификации. Кроме того, рассчитывали отношение IMA к концентрации альбумина (IMA/albumin ratio – IMAR), чтобы свести к минимуму влияние изменения содержания сывороточного альбумина (СА) на IMA. Содержание СА определяли по реакции с бромкрезоловым зеленым. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me$  ( $Q1$ ;  $Q3$ ).

Обнаружено повышение уровней IMA и IMAR в 3-й группе по отношению к 1-й и 2-й группам. Содержание СА в 3-й группе, наоборот, было достоверно ниже по сравнению с первыми двумя группами (табл. 1).

Таблица 1. Уровни IMA, IMAR и СА в сыворотке крови добровольцев разных возрастных групп

Показатель	Группы			
	1-я	2-я	3-я	<i>p</i>
IMA	0,357 (0,317; 0,400)	0,363 (0,320; 0,379)	0,404 (0,369; 0,446)	$p_{1-3}<0,05; p_{2-3}<0,05$
IMAR, дл/г	0,071 (0,064; 0,086)	0,076 (0,067; 0,082)	0,086 (0,080; 0,105)	$p_{1-3}<0,01; p_{2-3}<0,01$
СА, г/дл	4,9 (4,7; 5,1)	4,8 (4,6; 4,9)	4,5 (4,3; 4,7)	$p_{1-3}<0,05; p_{2-3}<0,05$

Для выявления взаимосвязи между уровнями IMA, IMAR, СА и возрастом был проведен корреляционный анализ по данным всех добровольцев. Установлена положительная корреляция между IMA, IMAR и возрастом. Соответствующие коэффициенты корреляции составили  $r=0,308$  ( $p<0,05$ ) и  $r=0,412$  ( $p<0,01$ ). Кроме того, обнаружена отрицательная взаимосвязь между содержанием СА и возрастом –  $r=-0,546$  ( $p<0,001$ ), а также между уровнями IMA, IMAR и содержанием СА –  $r=-0,7$  ( $p<0,001$ ) и  $r=-0,851$  ( $p<0,001$ ) соответственно.

Повышение уровней IMA и IMAR у обследуемых 3-й группы по сравнению с 1-й и 2-й группами можно объяснить более высокой интенсивностью свободно-радикальных реакций. Наличие положительной взаимосвязи между уровнями IMA, IMAR и возрастом показывает, что при старении, по-видимому, происходит усиление продукции АФК, что приводит к оксидативной модификации СА и уменьшению его способности к связыванию ионов Co(II). В свою очередь, уменьшение содержания СА с возрастом также повышает риск развития ОС, поскольку этот полифункциональный белок сыворотки крови является важным неферментативным антиоксидантом.

Определение IMA (IMAR), наряду с другими маркерами ОС, может быть использовано для изучения роли свободных радикалов в механизмах старения, а также для оценки эффективности применения антиоксидантов с целью регуляторного воздействия на эти механизмы.

1. Martemucci G., Portincasa P., Di Ciaula A. et al. Oxidative stress, aging, antioxidant supplementation and their impact on human health: An overview // Mechanisms of Ageing Development, 2022, vol. 206, pp. 111707, doi: 10.1016/j.mad.2022.111707.

2. Bar-Or D., Lau E., Winkler J.V. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report // The Journal of Emergency Medicine, 2000, vol. 19, no. 4, pp. 311-315, doi: 10.1016/s0736-4679(00)00255-9.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ “CLONE M-3” МЕТОДАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

### Study of the Micromechanical Properties of Melanoma Cells “Clone M-3” by Atomic Force Microscopy

Торхов Н.А., Ращенкова И.И., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [lantushenko@mail.ru](mailto:lantushenko@mail.ru)

Интенсивное развитие методов атомно-силовой микроскопии (АСМ) позволяет сейчас на новом качественном и количественном уровнях подойти к неразрушающему исследованию локальных микромеханических и энергетических свойств живых клеток на микро и наноуровнях. К настоящему времени основной объём АСМ-исследований был направлен в основном на поиск и оптимизацию способов обнаружения раковых клеток, их механического вклада в некоторые биохимические процессы, связанные, например, с различиями между нормальными и раковыми клетками [1, 2]. В то же время, до сих пор всё ещё не установлены окончательные причины, обуславливающие их высокий инвазивный потенциал, связанный вероятно с их уникальными микромеханическими свойствами.

В связи с этим в данной работе исследован комплекс таких микромеханических свойств и энергетических характеристик клеток меланомы, как: упругие деформации  $\Delta h_{dfm}$ , жёсткость  $F_{stif}$ , сила адгезии  $F_{adh}$  и механическая работа адгезионных сил  $A_{adgh}$ .

В качестве примера использовались клетки меланомы мыши “Clone M-3”. Клеточная суспензия вносилась на поверхность образцов эпитаксиального кремния дырочного типа проводимости p-Si{111}, размещенных в лунках шестилуночного планшета и помещались в культиватор на 24 часа.

После отмывки поверхность образцов с живыми клетками исследовалась при нормальных условиях на воздухе методами АСМ в контактном и гибридном режимах сканирования с разрешением  $256 \times 256$  pt. Подвод кантилевера к поверхности осуществлялся в режиме “touch”, обеспечивающем достаточно аккуратное пошаговое приближение зонда к поверхности мембраны.

Исследования морфологии поверхности клеток, их микромеханических и энергетических свойств осуществлялось с использованием АСМ NTEGRA-AURA производства NT-MDT г. Зеленоград, Москва. В качестве измерительного зонда использовались кантилеверы HA-FMW<sub>2</sub>C с радиусом закругления острия  $r \leq 6$  нм.

Проведенные исследования показали, что клетки “Clone M-3” обладают уникальными микромеханическими свойствами обуславливающих их сильное сцепление с поверхностью подложки и способность к перемещению, например, в сторону наиболее близко расположенных биологических объектов – в данном случае аналогичных клеток меланомы. В основном акты перемещений связаны с распространением от материнской клетки в выбранном направлении отростков на достаточно большие (превышающие размеры самой клетки) расстояния.

Проведено сравнение полученных результатов с аналогичными параметрами клеток буккального эпителия человека [3]. Так как последние являются одними из наиболее прочных и устойчивых к воздействиям внешней среды клеток человека, то их можно использовать в качестве некоего сравнительного эталона по отношению к микромеханическим свойствам и других клеток человека.

Таблица 1. Средние значения микромеханических и энергетических параметров клеток меланомы мыши и буккального эпителия человека

Клетка	Средние значения микромеханических и энергетических параметров			
	$\langle F_{adh} \rangle$ , N	$\langle A_{adgh} \rangle$ , J/m <sup>2</sup>	$\langle F_{stif} \rangle$ , N/m	$\langle \Delta h_{dfm} \rangle$ , nm
буккального эпителия человека [3]	$12 \times 10^{-6}$	198,0	36,5	3,0
меланомы мыши	$8,2 \times 10^{-3}$	$6,8 \times 10^{-4}$	$7,59 \times 10^2$	92,4

Полученные результаты, представленные в таблице 1, показали, что относительно большой интервал упругих деформаций  $\Delta h_{dfm}$  позволяет клеткам меланомы мыши “Clone M-3” затрачивать существенно меньше энергии на совершение механической работы адгезионных сил  $A_{adgh}$  в клеточном и внеклеточном матриксе носителя (хозяина), а большая жёсткость их мембран  $F_{stif}$  и сила адгезии  $F_{adh}$  способствуют достаточно свободно (практически не ощущая границ) и относительно быстро перемещаться в клеточной и внеклеточной среде носителя. Таким образом было выявлено, что именно микромеханические и энергетические свойства данных клеток могут определять наряду с остальными биологическими факторами их высокий инвазивный потенциал.

*Работа выполнена в рамках Программы развития научного центра мирового уровня «Новые материалы специального назначения» (Соглашение №075-15-2025-605).*

1. Laidler P., Dulińska J., Lekka M., Lekki J. // Arch. Biochem. Biophys., 2005, vol. 435, pp. 1-14.

2. Lekka M., Laidler P., Labedz M. et al. // Chem. Biol., 2006, vol. 13, pp. 505-512.

3. Torkhov N.A., Buchelnikova V.A., Mosunov A.A., Ivonin I.V. AFM methods for studying the morphology and micromechanical properties of the membrane of human buccal epithelium cell // Scientific Reports, 2023, vol. 13, 10917, doi: 10.21203/rs.3.rs-2131384/v1.

## ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА Age-Related Changes in Electrical Activity of the Human Brain

Устинин М.Н., Бойко А.И., Рыкунов С.Д.

Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша, г. Москва, РФ, [ustinin@impb.ru](mailto:ustinin@impb.ru)

С использованием большого массива экспериментальных данных рассмотрены изменения электрической активности человеческого мозга в широком возрастном диапазоне от 18 до 88 лет [1]. Магнитные энцефалограммы и магнитно-резонансные томограммы были получены для 600 испытуемых и предоставлены для широкого использования в открытом архиве Cam-CAN (Кембридж, Великобритания). Для всех испытуемых по данным энцефалографии были рассчитаны функциональные томограммы – пространственное распределение элементарных спектральных составляющих. Физиологический шум устранялся совместным анализом функциональных томограмм и магнитно-резонансных томограмм. При помощи массового решения обратной задачи многоканальные спектры были преобразованы во временные ряды мощности элементарных токовых диполей. Изучены возрастные изменения электрической мощности различных ритмов мозга. Установлено, что суммарная электрическая активность мозга постоянна на протяжении всей жизни человека. Электрическая мощность перераспределяется по частотам в течение жизни: уменьшение мощности дельта ритма компенсируется суммарным ростом мощности остальных ритмов (тета, альфа, бета и гамма).

1. Ustinin M., Boyko A., Rykunov S. Healthy aging changes in conventional frequency bands of neuroelectric brain activity reconstructed from resting-state MEG // Geroscience, 2025, vol. 47, no. 3, pp. 4093-4108, doi: 10.1007/s11357-025-01522-y.

## MATHEMATICAL MODELING OF BIODEGRADATION PROCESSES IN A BIODIGESTER: BIODIGESTION STAGES DYNAMICS

Hermández Jiménez H., Campos Cobos E., Morales Marco A., Agustín Serrano R.,  
Zenteno Mateo B., Hernández Santiago A.A.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

The study of biodigesters for biogas production is a viable and inexpensive alternative to contribute to reducing environmental pollution and supporting energy production. This research presents the stages of biodegradation that a biodigester undergoes to produce methane from organic waste of animal origin. The result of this research on static and dynamic biodigestion models is the proposal of a new mathematical model based on bacterial dynamics to produce biol, a biodegradable product in liquid phase that can be used as organic fertilizer. A mathematical analysis of the proposed mathematical model is the subject of future studies and promises applicability in the design and optimization of biodigesters.

### The mathematical model for biol. production

$$\frac{d b_{AB}}{dt} = r_h = \frac{K_M S_{bp}/Z_{AD}}{[K_s + (S_{bp}/Z_{AD})]} Z_{AD}$$

where

$$S_{bp} = \frac{S_{bpi}}{\left\{ 1 + \frac{Y_{AD} K_M + \left( \frac{1}{R} + b_{AB} \right) [1 + b_{AB} R (1 - Y_{AD})]}{Y_{AD} K_G \left( \frac{1}{R} + b_{AB} \right)} \right\}}, Z_{AD} = \frac{Y_{AD} (S_{bpi} - S_{bp})}{[1 + b_{AD} R (1 - Y_{AD})]}, S_m = (1 - Y_{AD}) R r_h$$

$$\frac{d [acetic]}{dt} = \frac{2R_G}{\left( 1 + \frac{[N_{AD}H]}{[N_{AD}^+]} \right)^2} - \frac{2R_G}{\left( 1 + \frac{[N_{AD}H]}{[N_{AD}^+]} \right)^2 \left( 1 + \left\{ \frac{[N_{AD}H]}{[N_{AD}^+]} \right\}^{-1} \right)}$$

$$\frac{dX_G}{dt} = Y'_{acetic} \cdot \frac{d[acetic]}{dt} + Y'_{propionic} \cdot \frac{d[propionic]}{dt} + Y'_{butyric} \cdot \frac{d[butyric]}{dt} - X_G \cdot b_{AB}$$

$$\frac{d[propionic]}{dt} = \frac{R_p}{1 + \frac{[N_{AD}H]}{[N_{AD}^+]}}, \quad R_p = \frac{k_p X_p [propionic]}{(K_p + [propionic])}$$

$$\frac{dX_p}{dt} = Y_p \cdot \frac{d[propionic]}{dt} - X_p \cdot b_{AB}$$

With dynamics variables:

$b_{AB}$ =, endogenous respiration rate,  $Z_{AD}$ =acidogenic biomass concentration, [name]= chemical concentration of “name”,  $X_G$ =concentration of glucose fermenters,  $X_p$ =chemical concentration of biol. And control parameters:  $K_M=5.27$ ,  $R=8.314$ ,  $K_s=7.98$ ,  $S_{bp}$ ,  $S_{bpi}$ ,  $Y'_{name}$ ,  $Y_{AD}$ ,  $K_G$ ,  $Y_p$ ,  $[N_{AD}H]$  and  $[N_{AD}^+]$ .

## ОЦЕНКА МИКРОВЯЗКОСТИ МЕМБРАН КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ FLIM МИКРОСКОПИИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА BODIPY2

Measuring Membrane Microviscosity in Colorectal Cancer Cells with Distinct Migratory Properties using FLIM and the BODIPY2 Molecular Rotor

Хлынова А.Э.<sup>1</sup>, Шимолина Л.Е.<sup>1</sup>, Игнатова Н.И.<sup>1</sup>, Дружкова И.Н.<sup>1</sup>, Куимова М.К.<sup>2</sup>, Ширманова М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, РФ, [sashahlynova@list.ru](mailto:sashahlynova@list.ru)

<sup>2</sup> Имперский колледж Лондона, Южный Кенсингтон, г. Лондон, Великобритания

Клеточная биомеханика определяется множеством параметров, одним из ключевых является вязкость плазматической мембраны. Неопластическая трансформация клеток неизбежно приводит к изменениям клеточной биомеханики, что в свою очередь способствует развитию, инвазии и метастазированию опухолевых клеток в организме. Однако, данные о взаимосвязи вязко-эластических свойств мембран с миграционной активностью опухолевых клеток противоречивы. Известно, что опухолевые клетки как с более вязкими, так и с

более жидкими мембранами имеют высокий потенциал к инвазии и распространению в организме. Поэтому исследование взаимосвязи между текучестью мембран и их миграционным потенциалом остается актуальной проблемой, особенно в контексте опухолей.

Таким образом, целью работы стала оценка микровязкости мембран опухолевых клеток колоректального рака человека с разной миграционной активностью с использованием FLIM имиджинга и молекулярного ротора BODIPY2.

Для исследования была выбрана панель клеток колоректального рака человека HCT116, HT29, Caco-2, SW837 и SW480, имеющих разную миграционную активность и клеточный фенотип. Индукция эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) проводилась путем добавления реагента StemXVivo EMT Inducing Media Supplement (Bio-Techne, USA) в культуральную среду. Флуоресценцию регистрировали с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DMIL (Leica, Wetzlar, Germany). Для моделирования теста на «заращение раны» были использованы силиконовые вставки с лунками (Ibidi GmbH, Мартинсрид, Германия). Вставка устанавливалась в стерильные чашки со стекляннным дном FluoroDish в среде DMEM без фенолового красного (Life Technologies). В каждую из лунок было посажено по 20 тыс клеток в 50 мкл среды. По достижению монослоя (1-2 суток) в лунках (через 1-2 суток), вставка аккуратно извлекалась из чашки. Для визуализации микровязкости был использован флуоресцентный молекулярный ротор BODIPY2 в концентрации 4.5 мКМ. Флуоресцентные изображения были получены на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Йена, Германия), оснащенном модулем FLIM, SPC 150 TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Берлин, Германия).

При измерении микровязкости было показано, что наиболее жидкие мембраны имеют клетки HT29 - ( $427 \pm 30$ ) сП, время жизни флуоресценции ротора составило ( $2,95 \pm 0,10$ ) нс. Клетки линий Caco-2, HCT116 и SW837 имеют немного более вязкие мембраны: ( $448 \pm 51$ ) сП, ( $456 \pm 33$ ) сП и ( $457 \pm 27$ ) сП, соответственно. Наиболее вязкими оказались мембраны опухолевых клеток линии SW480 – ( $491 \pm 45$ ) сП, время жизни флуоресценции ротора составило ( $3,17 \pm 0,14$ ) нс. Интересно, что самыми жидкими мембранами обладают менее подвижные клетки HT29 с эпителиальным фенотипом, а более подвижные клетки SW480 с мезенхимально-подобным фенотипом и самые вязкие мембраны в исследуемом ряду клеток. Другие клеточные линии имеют промежуточную миграционную активность.

Одним из ключевых вопросов стало выявление отличий в вязкостных свойствах мембраны при индукции эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). В результате индукции ЭМП клетки приобретали вытянутую веретенообразную форму и слабо прилегали к дну чашки, что является признаком мезенхимального фенотипа. При этом, микровязкость мембран клеток увеличилась к концу активации ЭМП с ( $345 \pm 43$ ) сП до ( $411 \pm 33$ ) сП.

При моделировании теста на «заращение раны» было обнаружено, что микровязкость мембран клеток HT29 на границе «раны» составила ( $406 \pm 51$ ) сП, в отдельных мигрирующих клетках -  $276 \pm 31$  сП, при этом вязкость мембран клеток в монослое клеток составила ( $432 \pm 39$ ) сП. У клеток SW480 наблюдается схожая тенденция – микровязкость мембран клеток на границе «раны» составила ( $367 \pm 45$ ) сП, в отдельных мигрирующих клетках в области «раны» – ( $292 \pm 39$ ) сП, при этом вязкость мембран клеток в монослое составила – ( $470 \pm 20$ ) сП.

Таким образом, была исследована вязкость мембран клеток колоректального рака человека с разной миграционной активностью с использованием микроскопии FLIM и флуоресцентного молекулярного ротора BODIPY2. Отмечено, что клетки с более вязкой мембраной имеют большую миграционную активность и наоборот. При моделировании теста на «заращение раны» показано, что для обеих исследуемых линий общая тенденция к снижению микровязкости у мигрирующих клеток. Индукция ЭМП сопровождалась увеличением микровязкости мембран клеток концу активации ЭМП. Полученные результаты о клеточной биомеханике будут полезны для разработки новых диагностических подходов в онкологии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 23-74-00045).*

## ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ КРАСИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ АЗОЛОТРИАЗИНОВ К БИОМАКРОМОЛЕКУЛАМ

### Assessment of the Potential Specificity of Azolotriazine-Based Dyes to Biomacromolecules

Черных Ю.А., Плешкова М.Н., Вандышев Д.Ю. Антипов С.С.

Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, [che.julia1520@mail.ru](mailto:che.julia1520@mail.ru)

Флуоресцентные красители представляют собой обширную группу органических соединений, которые находят широкое применение в биофизических исследованиях. Их использование особенно важно при изучении веществ или материалов, которые обладают низкой способностью к люминесценции, либо не флуоресцируют вовсе. Использование искусственных флуорофоров в флуоресцентной микроскопии и спектроскопии позволяет оценивать изменения в конформации биомакромолекул, а также изучать молекулярные механизмы возникновения и развития патологий, влияние биологически активных веществ и лекарств на организм. Кроме того, флуоресцентные красители активно применяются для идентификации бактерий и патогенных микроорганизмов. В связи с этим, необходимо проводить исследования специфичности новых флуоресцентных красителей с различными белками, чтобы определить их потенциальную специфичность. В ходе нашего

исследования были зарегистрированы спектры поглощения флуоресцентных красителей в чистом виде и в присутствии белка лизоцима. Лизоцим – это термостабильный белок, способный разрушать клеточные стенки бактерий и часто применяемый в биофизических исследованиях. Спектр был снят в диапазоне длин волн от 190 до 900 нм. Максимумы для чистых красителей 8, 14, 15 локализованы в области 250 нм, 320 нм, 350 нм, для красителей со 2 по 5 в области 260 нм и 410 нм, для 11 и 12 в области 310 нм, 370 нм, 470 нм и 500 нм, для 9 красителя в области 350 нм, 460 нм и 510 нм. Для красителя 1 максимумы локализованы в области 250 нм и 510 нм, для 13 в области 240 нм, 300 нм и 490 нм, для 16 в области 210 нм, 240 нм и 560 нм. Максимумы для 6 красителя локализованы в области 280 нм, 380 нм и 420 нм, для 7 в области 305 нм, 360 нм и 405 нм, для красителя 10 в области 260 нм и 360 нм. Присутствие лизоцима приводило к унификации спектров для всех красителей, максимумы были зарегистрированы в области 225 нм и 280 нм. Изменение спектров поглощения зондов в присутствии лизоцима может указывать на возможность взаимодействия данного белка с заявленными красителями. Для подтверждения данной гипотезы нами была проведена оценка флуоресцентных характеристик синтезированных соединений. Каждый из полученных красителей имел в спектре испускания в области 327 нм. При этом красители 8 и 13 имели дополнительные максимумы в области 480 нм, красители 10, 14 и 15 в области 490 нм, краситель 2 в области 510 нм, красители 4 и 7 в области 515 нм, красители 5 и 6 в области 530 нм, краситель 3 в области 537 нм. Далее были зарегистрированы спектры испускания для флуоресцентных красителей в присутствии лизоцима, который привёл к смещению максимумов флуоресценции в область 340 нм для красителей с 1 по 8, у 8 красителя присутствует дополнительный максимум в области 440 нм. Для красителей с 9 по 16 сохранился максимум при 327 нм, но их интенсивность значительно увеличилась. Полученные данные свидетельствуют о возможном взаимодействии отдельных красителей на основе азолотриазинов с белком лизоцимом, что в дальнейшем может послужить основой для создания тест-систем с использованием данных флуоресцентных зондов.

## ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПОНИМАНИЯ ПРОЦЕССОВ СТАРЕНИЯ

### Assessment of the State of the Antioxidant System as a Tool for Understanding Aging Processes

Чжу О.П., Аравияшвили Д.Э., Руденко Н.С., Маринич И.И.

Курчатовский комплекс медицинской приматологии, г. Сочи, РФ, Chzhu\_OP@nrcki.ru, olga.chzhu@mail.ru

Старение представляет собой сложный и многофакторный процесс, который изучается с различных точек зрения, что порождает множество определений. Каждое из них акцентирует внимание на определенных аспектах старения, таких как биологические, социальные и психологические компоненты.

Современные исследования в области геронтологии показывают, что между окислительным стрессом и воспалительными процессами имеется тесная взаимосвязь, которая служит основой для формирования окислительно-воспалительной теории старения. Эта теория подразумевает, что старение можно рассматривать как потерю гомеостаза, что происходит из-за хронического окислительного стресса. Особенно сильно этот стресс воздействует на регуляторные системы организма, такие как нервная, эндокринная и иммунная системы.

Экспериментальное моделирование патологий человека на животных является важным инструментом для медицины, особенно в контексте изучения патогенеза заболеваний, связанных со свободно-радикальным окислением. Процесс старения у людей имеет много общего с аналогичными процессами, наблюдаемыми у других видов приматов. Это сходство объясняется тем, что механизмы старения у приматов и человека имеют полную корреляцию. На сегодняшний день отсутствует комплексное описание и, соответственно, модель старения нечеловекообразных приматов. Это ограничение не позволяет применять данную модель для испытаний лекарственных препаратов, которые могут предотвратить возрастные патологии, встречающиеся у человека.

**Цель данной работы** заключается в проведении комплексной оценки определенных показателей состояния оксидативной системы организма, что является важной частью полного описания модели старения у нечеловекообразных приматов.

**Выводы.** Исследование различных показателей состояния оксидативной системы организма, основанное на анализе продуктов перекисного повреждения клеток и активности ферментов, составляющих антиоксидантную защиту, дало интересные результаты. В ходе анализа было установлено, что с увеличением возраста наблюдается рост содержания окисленных форм, среди которых особенно выделяется малоновый диальдегид (МДА). Это свидетельствует о нарастающем оксидативном стрессе, который может оказывать негативное влияние на клетки и ткани организма.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) была зафиксирована на более высоком уровне у самцов всех возрастных групп. Это может указывать на различия в метаболических процессах между полами, а также на то, что мужские особи имеют более выраженные механизмы защиты от окислительного стресса. Однако, стоит отметить, что активность каталазы, другого важного антиоксидантного фермента, изменяется с возрастом только у самцов и, как правило, имеет тенденцию к уменьшению. Это также наблюдается и в отношении активности СОД, что может свидетельствовать о снижении защитных механизмов организма с течением времени.



В ходе сравнительного анализа маркеров окислительного стресса и состава белковых фракций у возрастных животных была выявлена повышенная реакция со стороны иммунной системы, что может указывать на наличие воспалительных процессов. Такие процессы, как известно, часто сопровождают старение и могут существенно влиять на общее состояние здоровья животных.

Кроме того, результаты исследования также показали, что структурные aberrации хромосом являются одним из типов генетических нарушений, которые, безусловно, вносят свой вклад в сложный многофакторный процесс старения у приматов. Эти изменения в хромосомах могут приводить к различным нарушениям в клеточном метаболизме и, как следствие, ускорять процесс старения, что подчеркивает важность изучения генетических аспектов в контексте возрастных изменений.

Таким образом, полученные данные могут быть полезны для дальнейших исследований в области геронтологии и медицины, направленных на понимание механизмов старения и разработки методов его замедления.

Данная работа выполнена в рамках государственного задания с использованием оборудования центра коллективного пользования «Примат».

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ЭПР МЕТАЛЛСОДЕРЖАЩИХ МОЛЕКУЛ В СУСПЕНЗИИ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

### Determination of Metal-Containing Compounds in Ehrlich Ascites Carcinoma Cell Suspension using EPR Spectroscopy after Cryopreservation

Шабанова Д.А.<sup>1,2</sup>, Крюкова О.В.<sup>1</sup>, Тюменцева А.В.<sup>1</sup>, Максимов Н.Г.<sup>1</sup>, Столяр С.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск, РФ,

<sup>2</sup> Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, [sulfidna@gmail.com](mailto:sulfidna@gmail.com)

Криоконсервация представляет собой технологию длительного хранения клеточных линий, основанную на замедлении метаболических процессов и сохранении жизнеспособности клеток [1]. Особое значение метод имеет для работы с опухолевыми клетками в экспериментальной онкологии. В частности, асцитная карцинома Эрлиха (АКЭ) – широко применяемая перевиваемая опухолевая модель, требующая постоянного пассирования на лабораторных мышах для поддержания линии *in vivo* [2]. Эта особенность приводит к необходимости использования большого количества животных. Внедрение криоконсервации клеток АКЭ представляется перспективным подходом, т.к. позволяет обеспечить долгосрочное хранение опухолевого материала, сократить число пассажей и минимизировать использование лабораторных животных [3].

Основная цель работы – оценить влияние разных температур хранения клеток АКЭ на уровень металлосодержащих ферментов в суспензии.

Клетки АКЭ извлекали из брюшной полости мышей на 10 сутки развития опухоли. Суспензию разводили в среде DMEM с добавлением FBS и DMSO, разделяли на 3 группы и замораживали при -20°C, -80°C и -196°C. Через 2 месяца методом ЭПР-спектроскопии определяли содержание белков, имеющих в своем составе металлы с переменной валентностью на спектрометре Elexsys E580 (Bruker), дополнительно оценивали жизнеспособность клеток АКЭ при окрашивании YO-pro и PI методом проточной цитометрии (CytoFLEX, Beckman Coulter). Оборудование предоставлено Красноярским региональным центром коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

При анализе спектров АКЭ ранее было получено, что в нативной суспензии четко регистрируются парамагнитные центры от таких ферментов как трансферрин ( $\text{Fe}^{3+}$ ), церулоплазмин ( $\text{Cu}^{2+}$ ) и молибденсодержащих ферментов, вероятнее всего сульфитоксидазы. Также имеется сигнал от динитрозильных комплексов железа и радикальных форм кислорода и азота [4, 5].

Анализ ЭПР-спектров АКЭ показал, что после криохранения клеток наблюдается отличие содержания металлосодержащих ферментов в суспензии. В образцах, хранившихся при -20°C появляется сигнал от  $\text{Fe}^{3+}$  и исчезает сигнал от  $\text{Fe}^{2+}$ , а от молибденсодержащих ферментов остается слабый сигнал, в 10 раз меньше контрольного образца. Такое изменение ЭПР-сигналов свидетельствует о том, что при -20°C процессы окисления в клетках продолжаются, и 2 месяца хранения клеток приводят к существенной деградации образца и снижению жизнеспособности клеток, что и подтвердилось при проверке жизнеспособности клеток (менее 20% живых клеток в суспензии).

ЭПР-спектры показывают сохранение сигналов трансферина и молибденсодержащих молекул при -80°C и -196°C, однако интенсивность сигналов парамагнитных центров ферментов достоверно снижается по сравнению с нативной суспензией. Сигнал церулоплазмينا ( $\text{Cu}^{2+}$ ) после криоконсервации отсутствует во всех образцах. Жизнеспособность клеток после размораживания составила  $82,9 \pm 0,8\%$  при -80 °C и  $68,1 \pm 2,6\%$  при -196 °C. Снижение жизнеспособности клеток при температуре хранения -196 °C, возможно связано с разрушением клеток в процессе замораживания. Тем не менее, размороженные клетки АКЭ (-80°C и -196°C) сохраняют трансплантационную активность и способность формировать опухоль *in vivo*.

Исходя из полученных данных, видно, что процессы окисления в образцах при всех используемых в эксперименте температурах хранения продолжаются. Возможно для оптимизации протоколов криохранения и

повышения жизнеспособности клеток АКЭ в качестве добавок к криосреде можно использовать компоненты, обладающие антиоксидантными свойствами.

1. Raju R., Bryant S.J., Wilkinson B.L., Bryant G. The need for novel cryoprotectants and cryopreservation protocols: Insights into the importance of biophysical investigation and cell permeability // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 2021, vol. 1865, no. 1, doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129749.
2. Radulski D.R., Stipp M.C., Galindo C.M., Acco A. Features and applications of Ehrlich tumor model in cancer studies: a literature review // *Translational breast cancer research*. 2023, vol. 4, no. 22, doi: 10.21037/tbcr-23-32.
3. Santos K.M., Maciel F.P., Souza C.M. et al. Evaluation of different methods of cryopreservation of Ehrlich tumor cells // *Cryo letters*, 2015, vol. 36, no. 2.
4. Latyshev N.V., Kryukova O.V., Pyankov V.F., Stolyar S.V. Analysis of Ehrlich ascites carcinoma with electron paramagnetic resonance // *IEEE Ural-Siberian conference on computational technologies in cognitive science, genomics and biomedicine (CSGB)*, 2021, vol. 1, doi: 10.1109/CSGB53040.2021.9496012.
5. Ингрэм Д. Электронный парамагнитный резонанс в биологии. М.: Мир, 1972, 296 с.

## ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОДИНАМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ТИМУСЕ ПРИ ПОСТЕПЕННОМ УМЕНЬШЕНИИ ПОСТУПЛЕНИЯ ДЕЙТЕРИЯ В ОРГАНИЗМ

*Changes in Morphodynamic Processes in the Thymus with a Gradual Decrease in Deuterium Intake*

Яглова Н.В.<sup>1</sup>, Обернихин С.С.<sup>1</sup>, Тимохина Е.П.<sup>1</sup>, Яглов В.В.<sup>1</sup>, Назимова С.В.<sup>1</sup>, Цомартова Э.С.<sup>1,2</sup>,  
Иванова М.Ю.<sup>2</sup>, Черешнева Е.В.<sup>2</sup>, Ломановская Т.А.<sup>2</sup>, Паюшина О.В.<sup>2</sup>, Цомартова Д.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Российский научный центр хирургии  
им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, РФ, [yaglova@mail.ru](mailto:yaglova@mail.ru)

<sup>2</sup> Первый московский государственный медицинский университет им. И.С. Сеченова, г. Москва, РФ

Тимус является первичным органом иммунной защиты, обеспечивающим формирование Т-лимфоцитов, распознающих экзогенные и эндогенные антигены. Для генерации Т-клеток в тимусе происходят различные процессы, включающие пролиферацию, дифференцировку, апоптоз и миграцию клеток. Влияние изменений изотопного состава биогенных атомов на морфодинамику органов, и в частности, тимуса крайне мало изучено. В то же время в научной литературе имеются данные о значительных изменениях в скорости секреторных процессов при сдвиге баланса стабильных изотопов водорода в организме, изменении формирования ионных каналов, генерации тепла и синтеза макроэргических соединений в клетках [1-3]. Целью исследования было оценить изменения морфодинамических процессов в тимусе при постепенном уменьшении поступления дейтерия в организм. Эксперимент был выполнен на половозрелых самцах крыс Вистар, потреблявших воду с концентрацией дейтерия 150 (контрольная группа) и 10 ppm в течение 4 недель. Проведено цитофлуориметрическое исследование Т-лимфоцитов и их предшественников в первичной культуре тимоцитов и периферической крови. У крыс контрольной группы процесс пролиферации лимфобластов и их дальнейшей дифференцировки протекал волнообразно. К концу эксперимента отмечалось снижение активности пролиферации, свидетельствующее о возрастных инволютивных изменениях. Через сутки после начала эксперимента у крыс, потреблявших воду с пониженным содержанием дейтерия, отмечалось многократное пропорциональное увеличение содержания в тимусе бластов и одновременно дифференцированных Т-клеток, что указывало на активацию тимопоэза и подтверждало ранее полученные данные об активации тимопоэза у взрослых животных при понижении содержания дейтерия в организме в течение суток [4]. Эти данные коррелируют с результатами предшествующего исследования, показавшего активацию секреторных процессов в щитовидной железе и увеличение концентрации тироксина в системном кровотоке, являющегося стимулятором тимопоэза, через сутки после потребления воды с пониженным до 10 ppm содержанием дейтерия [5]. К 3-м суткам наступало истощение пролиферации тимобластов и их дифференцировки. На 7-ые сутки усиливалась миграция высокодифференцированных Т-клеток из тимуса в кровоток. Через 2 недели после начала эксперимента наблюдалось повторное усиление дифференцировки тимоцитов, а через 3 недели – увеличение пролиферации лимфобластов в тимусе. Через 4 недели отмечено продолжающееся формирование предшественников Т-клеток в тимусе и одновременно активная миграция зрелых Т-клеток в системный кровоток, превышающие значения крыс, потреблявших воду с содержанием дейтерия 150 ppm. Полученные данные свидетельствуют, что у взрослых животных снижение содержания дейтерия изменяет морфодинамические процессы, активирует пролиферацию и дифференцировку клеток, замедляя инволютивные процессы в тимусе.

1. Yaglova N.V., Obernikhin S.S., Yaglov V.V., Nazimova S.V. Time-dependent effect of deuterium depletion on tumor growth and metastasis // *RusOMJ*, 2020, vol. 9, e0210, doi: 10.15275/rusomj.2020.0210.

2. Козин С.В., Лясота О.М., Кравцов А.А. и др. Смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме лабораторных животных при пятикратном повышении концентрации дейтерия в питьевом рационе // *Биофизика*, 2023, т. 68, № 2, с. 369-375, doi: 10.31857/S0006302923020163.

3. Yaglova N.V., Obernikhin S.S., Timokhina E.P. et al. Bilateral Shifts in Deuterium Supply Similarly Change Physiology of the Pituitary–Thyroid Axis, but Differentially Influence Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> Symporter Production // *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, p. 6803, doi: 10.3390/ijms24076803.

4. Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П. и др. Реактивные изменения лимфоцитопоза в тимусе при кратковременном уменьшении содержания дейтерия в организме // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2022, т. 173, № 4, с. 508-511, doi: 10.47056/0365-9615-2022-173-4-508-511.

5. Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П., Яглов В.В. Реакция гипоталамо-тиреоидной оси на кратковременное изменение содержания дейтерия в организме // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2021, т. 171, № 2, с. 232-234.

## ЛАТЕРАЛЬНАЯ ДИФФУЗИИ МОЛЕКУЛ АССОЦИИРОВАННЫХ С МЕМБРАНОЙ ТЕНЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ ПО ДАННЫМ ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА С ИМПУЛЬСНЫМ ГРАДИЕНТОМ МАГНИТНОГО ПОЛЯ

### Lateral Diffusion of Molecules Associated with Membrane of Red Cell Ghost from Pulsed Field Gradient NMR Measurements

Ягудина Ю.Н.<sup>1</sup>, Салимова Д.А.<sup>2</sup>, Мельникова Д.Л.<sup>1</sup>, Гнездилов О.И.<sup>1</sup>, Гиматдинов Р.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ, [rsgimatdinov@kpfu.ru](mailto:rsgimatdinov@kpfu.ru)

<sup>2</sup> Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, РФ, [rgimatdinov@kazanmgmu.ru](mailto:rgimatdinov@kazanmgmu.ru)

Латеральная диффузия липидов в клеточной мембране обеспечивает подвижность и функционирование всех компонентов, ассоциированных с мембраной клетки. Динамические свойства липидного бислоя (вязкотекучее состояние мембраны) обуславливают возможности адаптации клетки к внешним условиям и изменяются под влиянием различных факторов, включая старение организма, развитие заболеваний (в том числе нарушение липидного обмена и амилоидоз), голодание, присутствие мембраноактивных веществ. Например, с возрастом уменьшается количество ненасыщенных жирных кислот, увеличивается содержание холестерина, снижается текучесть мембран. Разнообразные функции, которые выполняют липиды в мембране, связаны с особенностями их динамики и требуют дальнейшего изучения. Задача изучения характера диффузии липидных молекул вдоль мембраны клеток является важной задачей для понимания процессов, лежащих в основе многих физиологических и патологических состояний организма.

В работе с помощью измерения коэффициентов самодиффузии (КСД) методом ЯМР с Фурье-спектроскопией и импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП) показана возможность определения коэффициентов латеральной диффузии липидов в мембране эритроцитов. Измерения латеральной диффузии липидов проводились на мембранах теней эритроцитов на ядрах <sup>1</sup>H на частоте 400,22 МГц на спектрометре “AVANCE 400 III TM” (Bruker), оснащенном блоком импульсного градиента магнитного поля. Для измерения использовалась импульсная последовательность «стимулированное эхо». Регистрировались диффузионные затухания интенсивностей отдельных линий ЯМР в Фурье-спектрах спинного эха диффундирующих молекул при разных временах диффузии (td). «Тени» представляют собой ценный инструмент для этих исследований, так как максимально приближены к естественному липидному и белковому составу биологических мембран. Особенность теней эритроцитов заключается в отсутствии внутриклеточного содержимого, что значительно упрощает анализ сигнала, позволяя более точно определить вклад латеральной диффузии компонентов мембраны. Проведенные измерения КСД в широком интервале времен диффузии td для различных областей <sup>1</sup>H ЯМР спектра позволили определить компоненту диффузионного затухания, относящуюся к латеральной диффузии молекул фосфатидилхолина. Коэффициент латеральной самодиффузии фосфатидилхолина D<sub>s</sub> при температуре 308 К в мембране эритроцитов мышей линии CD-1 (возраст мышей 8-10 недель) составил в среднем по образцам  $4,9 \cdot 10^{-11}$  м<sup>2</sup>/с, для возраста 20-24 месяца D<sub>s</sub> =  $3,7 \cdot 10^{-11}$  м<sup>2</sup>/с (различие более 30 %). Предложена и обоснована методика количественной оценки вязкости мембраны по величине КСД этой компоненты в диффузионном затухании для клеток в норме и в процессе старения. По экспериментально полученным коэффициентам латеральной диффузии рассчитаны значения коэффициентов вязкости исследованных мембран, которые хорошо согласуются с литературными данными.

На основе анализа диффузионных затуханий сигналов спинного эха измеренных при разных временах диффузии фосфолипидов сделан вывод о существовании в «тенях» эритроцитов неоднородностей размером (0,5-0,7) мкм. Предположительно наблюдаемые неоднородности могут быть связаны с липидными рафтами. Диффузионные затухания (ДЗ) водной компоненты <sup>1</sup>H ЯМР спектра образцов «теней» эритроцитов демонстрируют отчетливые эффекты диффузионной дифракции (биения). Согласно [1], по графикам диффузионных затуханий построенным в координатах q-пространства определены размеры «теней» эритроцитов. Рассчитанное значение размеров теней эритроцитов хорошо согласуется с размерами, полученными методами микроскопии (~ 6 мкм). Этот результат делает метод ЯМР ИГМП перспективным в области изучения структурных и морфологических особенностей подобных биологических систем. По

экспериментальным данным путем анализа ДЗ водной компоненты при разных  $t_d$  оценено время жизни ( $\tau$ ) внутриклеточной воды в «тенях» эритроцитов и скорость обмена. Полученное значение  $\tau$  составляет 10,5 мс.

1. Pages G, Szekely D., Kuchel PW. Erythrocyte-shape evolution recorded with fast-measurement NMR diffusion-diffraction // J. Magn. Reson. Imaging, 2008, vol. 28, no. 6, pp. 1409-1416, doi: 10.1002/jmri.21588.

## СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ БИОПЛЁНОК *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*: РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПИГМЕНТА

#### Photodynamic Inactivation of *Pseudomonas Aeruginosa*: The Role of the Bacterial Pigment

Абдрахманова В.А., Ишемгулов А.Т., Давыдова О.К.

Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, РФ, [azamat.ischemgulov@yandex.ru](mailto:azamat.ischemgulov@yandex.ru)

Расширение распространения некоторых бактериальных инфекций связано с прогрессирующей устойчивостью болезнетворных штаммов к традиционным антибиотикам. Отсюда возрастает интерес к фотодинамической инактивации как к альтернативному способу воздействия на бактериальные клетки, при котором не развивается приобретённая резистентность [1]. В настоящей работе оценивалась выживаемость бактерий в искусственно выращенных биоплёнках грамотрицательных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* после фотодинамического воздействия с использованием сенсibilизатора эритрозина.

Для некоторых штаммов *P. aeruginosa* характерен сине-зелёный пигмент, в состав которого входят в первую очередь пиоцианин и пиовердин. Пиоцианин обладает собственной антибиотической и фотодинамической активностью, а пиовердин также проявляет свойства антиоксиданта и является сидерофором [2]. В эксперименте использовались как пигментированные, так и непигментированные штаммы бактерий.

Бактериальные биоплёнки изготавливались на питательной среде, состоящей из комбинации ЦПХ-бульона и ЦПХ-агара. Соотношение подбиралось таким образом, чтобы при температуре роста бактерий 37°C среда оставалась жидкой, а при комнатной температуре застывала, чтобы иметь возможность вырезать одинаковые образцы биоплёнок для получения стабильных результатов. В качестве сенсibilизатора использовался водный раствор эритрозина концентрации 0,5 ммоль/л, в качестве источника света – лампа КГМ-150 с плотностью мощности до 0,8 Вт/см<sup>2</sup>. Облучение производилось в лунках планшета, образцы были погружены в раствор сенсibilизатора таким образом, чтобы биоплёнка оставалась в контакте с воздухом. После облучения образцы биоплёнок суспензировались, разводились и высевались на твёрдую питательную среду для подсчёта КОЕ. Результаты выживаемости клеток в экспериментальных биоплёнках при облучении до плотности энергии 50 Дж/см<sup>2</sup> показаны на рисунке 1.

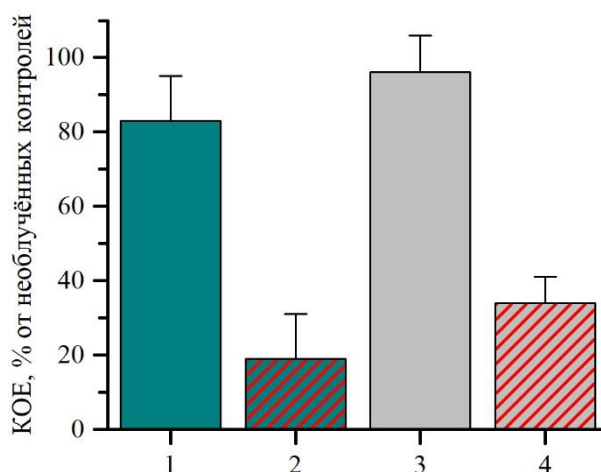


Рисунок 1. Снижение КОЕ в облучённых образцах в сравнении с необлучёнными: 1 и 2 – пигментированные неокрашенные и окрашенные эритрозином образцы, 3 и 4 – непигментированные неокрашенные и окрашенные эритрозином образцы

При отсутствии внешнего сенсibilизатора клетки пигментированного штамма показали чуть меньшую жизнеспособность, чем клетки пигментированного штамма (снижение роста в среднем 83% против 96%). Такая закономерность сохранилась при использовании эритрозина: подавление роста пигментированных клеток в пять раз, а непигментированных клеток – только в три раза. Полученные данные свидетельствуют, что присутствующие пигменты в бактериях обладают собственной фотодинамической активностью и могут давать вклад в инактивацию жизнеспособных клеток.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России, проект № FSGU-2023-0003.

1. Soares J.M., Yakovlev V.V., Blanco K.C. et al. Photodynamic inactivation and its effects on the heterogeneity of bacterial resistance // Sci. Rep., 2024, vol. 14, 28268, doi: 10.1038/s41598-024-79743-y.

2. Mudaliar S.B., Bharath Prasad A.S. A biomedical perspective of pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa*: its applications and challenges // World J. Microbiol. Biotechnol., 2024, vol. 40 (3), p. 90, doi: 10.1007/s11274-024-03889-0.

## БИООПТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОД ЧЕРНОГО МОРЯ ПОСЛЕ РАЗЛИВА МАЗУТА В ДЕКАБРЕ 2024 ГОДА

### Bio-Optical Studies of the Black Sea Waters after the Fuel Oil Spill in December 2024

Головин А.В.<sup>1,2</sup>, Бучельников А.С.<sup>1,2</sup>, Моисеева Н.А.<sup>2</sup>, Чурилова Т.Я.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, alex.golovin.140283@gmail.com

<sup>2</sup> ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,  
tanya.churilova@gmail.com

Разлив мазута в Керченском проливе, случившийся из-за повреждения танкеров во время сильного шторма 15 декабря 2024 года, возможно, сказался на качестве водной среды и состоянии биоты в акватории Черного моря, прилегающей к месту разлива. В связи с этим актуальна современная оценка качества и продуктивности вод.

В марте 2025 года в ходе рейса (134) НИС «Профессор Водяницкий» проводились измерения прозрачности вод, глубины зоны фотосинтеза, спектральных характеристик света в море, флуоресценции хлорофилла *a* как маркера его концентрации, спектральных показателей поглощения света окрашенным растворенным органическим веществом (CDOM) в шельфовых водах восточнее полуострова Крым.

Показано, что район работ характеризовался высокой неоднородностью по всем исследованным характеристикам. Прибрежная мелководная зона отличалась меньшей прозрачностью, и зона фотосинтеза сужалась до 5-10 м. При удалении от берега воды отмечено увеличение зоны фотосинтеза до 20-40 м. Увеличение прозрачности вод сопровождалось изменением спектрального состава света, проникающего к нижней границе зоны фотосинтеза, а именно, смещением максимума в спектре облученности в коротковолновую часть спектра (от 550 до 510 нм). Показано, что уменьшение прозрачности и смещение максимально проникающего излучения в зеленую область спектра связано в основном с увеличением содержания CDOM, которое является основным оптически активным компонентом среды в водах Черного моря. В качестве маркера содержания CDOM рассматривали показатель поглощения света CDOM, величина которого на длине волны 438 нм изменялась от 0,038 до 0,18 м<sup>-1</sup>. На основе результатов измерения спектральной облученности в пределах освещенного слоя определена первая оптическая глубина для фотосинтетически активной радиации (2-8 м). Показано изменение первой оптической глубины для разных длин волн (максимум в диапазоне 500-550 нм).

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что разлив мазута в начале зимы не оказал заметного влияния на прозрачность вод, содержание окрашенной компоненты растворенного органического вещества, ее спектральные характеристики в исследованном районе Черного моря.

*Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Исследование региональных особенностей биооптических показателей водоемов как основы дешифрования данных дистанционного зондирования для оценки мультимасштабной изменчивости первично-продукционных характеристик пелагических экосистем», № 124030100106-2.*

## СИНТЕЗ И ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ХИТИНА И ДИОКСИДА ТИТАНА ДЛЯ ОЧИСТКИ ВОДНЫХ СРЕД ОТ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

### Synthesis and Photocatalytic Properties of a Nanocomposite Based on Chitin and Titanium Dioxide for Purification of Aqueous Media from Organic Compounds

Горбачев С.А.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, РФ, stas89755@mail.ru

В настоящее время наиболее острой проблемой экологии является техногенные загрязнения водных и воздушных сред органическими соединениями. Подобные экологические проблемы связаны как с загрязнением сточных вод после различных химических производств, так и, например, с разливом нефти, связанным с аварийными ситуациями. Эффективным способом для решения таких экологических проблем является использование фотокатализаторов [1].

Фотокаталитической активностью обладают многие полупроводниковые материалы, в том числе и диоксид титана. Благодаря химической стабильности, биосовместимости и высокому окислительному потенциалу он

является перспективным фотокатализатором. Известно, что коммерческий диоксид титана используют для фотокаталитической деградации органических соединений, однако, применение его в чистом виде экономически необоснованно ввиду его высокой стоимости. Для удешевления коммерческого продукта получают органо-неорганические гибриды, в которых используется полимерная матрица как темплат для получения наночастиц диоксида титана методом золь-гель синтеза [2].

Получение нанокмпозитов с матрицей на основе полимеров позволяет не только удешевить коммерческий продукт, но и решить ряд задач, таких как равномерное распределение наночастиц в полимерной матрице, подавление их агрегации и стабилизации. Такие нанокмпозиты могут обладать высокой фотокаталитической активностью близкой к коммерческому фотокатализатору. Наиболее привлекательным полимером в качестве матрицы является такой биополимер как хитин [3]. Структурная организация хитина обеспечивает равномерное распределение наночастиц диоксида титана в полимерной матрице. Последующая термическая обработка нанокмпозита с выгоранием органического вещества приводит к образованию наночастиц контролируемой формы и размера, способных проявлять фотокаталитическую активность.

1. Zdravkov A., Listratenko M., Gorbachev S. et al. Solvothermal sol-gel synthesis of TiO<sub>2</sub> cellulose nanocrystalline composites // *Cellulose*, 2021, vol. 28, doi: 10.1007/s10570-020-03656-y.

2. Livage J., Beteille F., Roux C. et al. Sol-gel synthesis of oxide materials // *Acta Materialia*, 1998, vol. 46, no. 3, doi: 10.1016/S1359-6454(97)00255-3.

3. Shamshina J.L., Berton P., Rogers R.D. Ionic Liquid Platform for Spinning Composite Chitin–Poly(lactic acid) Fibers // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, vol. 6, no. 8, doi: 10.1021/acssuschemeng.8b01554.

### **СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОСАДКОВ CaCO<sub>3</sub> ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ: ВЛИЯНИЕ ДНК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ** **Structural Diversity of CaCO<sub>3</sub> Sediments during Bacterial Biomineralization: Influence of DNA of Different Origin**

**Иванова Л.А.<sup>1</sup>, Баранчиков А.Е.<sup>2</sup>, Горшкова Ю.Е.<sup>3</sup>, Верлов Н.А.<sup>1</sup>, Кульминская А.А.<sup>1</sup>, Лебедев Д.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,  
г. Гатчина, РФ

<sup>2</sup> Институт общей неорганической химии им. Н.С. Курнакова, г. Москва, РФ

<sup>3</sup> Объединённый институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ

Бактериальная биоминерализация – это процесс образования минеральных соединений с участием микроорганизмов, в частности бактерий, индуцирующих осаждение минералов CaCO<sub>3</sub> за счёт метаболической активности. Особое внимание в современных исследованиях уделяется роли органических компонентов, таких как внеклеточная ДНК (вДНК), входящих в состав внеклеточного матрикса бактериальных сообществ, поскольку эти биополимеры способны влиять на нуклеацию и морфологию минеральных агрегатов. Изучение механизмов участия различных типов ДНК в процессах биоминерализации позволяет глубже понять структурную организацию биогенных минералов и открывает перспективы для создания новых биоинспирированных материалов

В настоящем исследовании установлено, что добавление ДНК различного происхождения (лизат бактериальных клеток, плазмидная и геномная ДНК) существенно влияет на осаждение и мезоструктурные параметры осадков CaCO<sub>3</sub>, исследованные методом малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР). В абиогенных системах добавление плазмидной ДНК приводило, в том числе, к незначительному увеличению размера фрактальных кластеров и снижению их фрактальной размерности с 2,35 до 2,1, тогда как добавленная геномная ДНК, напротив, увеличивала фрактальную размерность до 2,8, что свидетельствует о формировании более разветвлённой и плотной структуры минеральных агрегатов. В бактериальных системах с низкой лизированных клеток также оказывало выраженное влияние на мезоструктуру осадков CaCO<sub>3</sub>. Полученные данные демонстрируют, что молекулярные характеристики ДНК – размер, происхождение и структура – определяют особенности нуклеации и роста минеральных фаз, что предполагает роль ДНК не только как триггера, но и как матрицы для синтеза биоминералов CaCO<sub>3</sub>.

## ПО ПУТИ ОВЧИННИКОВСКОЙ БИОФИЗИЧЕСКОЙ ЭКОЛОГИИ «К ТАИНСТВАМ ЖИВОГО... В ПРИРОДУ, К БЕЛКУ»

Along the Way of Ovchinnikovskoy Biophysical Ecology "to the Mysteries of the Living... into Nature, to the Protein"

Иванова Э.А.

Уфимский институт биологии РАН, УФИЦ УИБ РАН, г. Уфа, РФ, [fiona\\_belobor@mail.ru](mailto:fiona_belobor@mail.ru)

«Изучая прошлое, мы понимаем не только историю, но и самих себя»

Научная деятельность Ю.А. Овчинникова, началась сразу после окончания МГУ - 1957г, под руководством профессора Ю.А. Арбузова. (Ю.А. Арбузов – сын знаменитых представителей Казанской школы химиков. В 1937-1938гг у его отца – А.Е. Арбузова, учился навыкам практической химии С.Р. Рафилов – председатель президиума Башкирского филиала АН СССР (1967-1984 гг.)). После защиты кандидатской диссертации в 1961 г., М.М. Шемякин предложил Овчинникову заняться структурой химии пептидов, которые иногда называют маленькими белками. В 1967г был сформулирован принцип трансформации биологически активных пептидов и создания новых биологических молекул путём таких глубоких модификаций, как ацетилирование. Идеи этих пионерских работ были подхвачены, как у нас в стране, так и за рубежом. В 1969г разработку этой идеи внёс в БФ АН СССР Гладышев Г.П., как руководитель темы аспирантской работы: «Химическая модификация гистонов» [2]. Именно в этот период, в журнале «Nature» появилась статья «Закат белковой химии» [3]. В этой ситуации, Ю.А. Овчинников, как химик, выбирает новый подход к белковым проблемам, которые непосредственно связаны с миром биологии. По всей вероятности, этому способствовали биохимические работы И.Б. Збарского. С середины 1966г происходит активное проникновение биохимиков в биологически важные химические элементы периодической системы Менделеева [4] «глазами биофизика» [5]. В конце 1970-1980, годов Ю.А.Овчинников расширил фронт анализа мембранных белков – транспортеров. Он не видел большого различия между биоорганической химией и биохимией. Однако, все его «подходы и рабочая философия были даже более биологическими, чем у многих вполне оперившихся биологов» [6]. По-видимому, весь экскурс в белковый «Plant-Gen» процессинг привёл к написанию работ: «Эко-геномная стресс-устойчивость растений, как стратегия и тактика: супер-молекулярно-протеомного, морфо-динамического дизайна физико-химической природы биологии развития» [7]. Значение различных комбинаций сигналов гистонового кода ещё только начинает изучаться [8]. Совокупность сигналов, экспонированных на поверхности нуклеосомной тотальной хроматиновой матрицы (ТХрМ) представляет особый эпигенетический код, называемый также гистоновым кодом [8]. Ранее, американский биохимик и физиолог А. Мирски (1900-1974) поднял весь научный мир Лондона (1966) и Москвы (1968) в защиту «Гистонов и переноса генетической информации», с восклицанием, что история этих белков, «фактически творится на наших глазах, XIXв впитал в себя всё, чего достигла молекулярная биология. Однако, явления жизни следует анализировать на основе физических наук» [9]. XXIV путь системной биологии, требующий многогранной осмысленности важнейших жизненных процессов взаимосвязи, земной и космической природы развития.

1. Дорофеева В., Дорофеев В. Большая валентность // В кн.: «Юрий Анатольевич Овчинников жизнь и научная деятельность». Академия наук СССР, Институт биоорганической химии им. М.М.Шемякина. Москва. Наука. 1991. С.138-167. (In Russ.)

2. Ivanova E.A. Histone Modification in Plants and Its Physiological Role, Extended Abstract Sci.(Biol.) Dissertation, Moscow, 1977.

3. Модянов Н.Н. Воспоминания современников // В кн.: «Юрий Анатольевич Овчинников жизнь и научная деятельность». Академия наук СССР, Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина. Москва: Наука, 1991, с. 91-94.

4. Вечер А.С. Основы физической биохимии. Издательство «Высшая школа», Минск, 1966, 352 с.

5. Иваницкий Г.Р. Мир глазами биофизика. Москва: Педагогика, 1985, 128 с.

6. Карафолы Э. Воспоминания современников // В кн.: «Юрий Анатольевич Овчинников жизнь и научная деятельность». Академия наук СССР, Институт биоорганической химии им. М.М.Шемякина. Москва: Наука, 1991, с. 52-55.

7. Ivanova E.A. Eco-genetic stress-resistance of plants as strategy and tactics: supermolecular-proteomic, morpho-dynamic design of physico-chemical nature of developmental biology // Russian Journal of Biological and Physics and Chemistry, 2022, vol. 7, no. 1, pp. 166-175.

8. Разин С.В. Хроматин: упакованный геном. Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009, 17 с.

9. Иштвана Харгиттай. Откровенная наука: Беседы с корифеями биохимии и медицинской химии. М.: КомКнига, 2006, с. 34-35.



## БИООБРАСТАНИЕ МИКРОПЛАСТИКА: ОТ ЭКСПЕРИМЕНТОВ К МОДЕЛИ ОСАЖДЕНИЯ

### Biofouling of Microplastics: from Experiments to a Deposition Model

Острых Д.В.<sup>1</sup>, Кузнецов А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

<sup>2</sup> Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Загрязнение воды микропластиком (МП) представляет серьёзную экологическую угрозу. Ключевым фактором, определяющим судьбу МП в море, является его вертикальная миграция, контролируемая процессами фотодеградаци и биообрастания. Несмотря на активное изучение, количественная оценка вклада этих процессов остаётся сложной задачей. Целью данной работы стало экспериментальное исследование влияния параметров среды (тип воды, спектр света, аэрация) на осаждение микрочастиц бытовых пластиков (PETE, HDPE, PVC) в условиях Чёрного моря и разработка агентно-ориентированной модели колонизации поверхности (пластисфера) для анализа механизмов биообрастания.

**Методы. Экспериментальная часть** включала двухнедельную экспозицию (июнь 2025 г.) механически измельчённых микрочастиц (< 2 мм) бытовых пластиков в стеклянных аквариумах. Факторы варьировались следующим образом: тип воды (дистиллированная – Dist, морская – SW, Чёрное море,  $S \approx 18\%$ ), спектр света (белый – WL и синий – BL светодиоды), аэрация. После экспозиции частицы, оставшиеся на поверхности (UP) и осевшие на дно (DOWN), раздельно собирали, фильтровали, сушили (24 ч, 22°C) и взвешивали. Анализ базировался на сравнении массовых отношений DOWN/UP.

**Моделирование** выполнено на Python с использованием агентно-ориентированного подхода. Разработаны три сценария, имитирующие колонизацию круглой поверхности гидробионтами: 1) базовый – случайное движение и прилипание трёх типов агентов («бактерии», «амёбы», «моллюски»); 2) трофический – движение по поверхности и поедание («амёба» → «бактерия», «моллюск» → «амёба»); 3) энергетический – добавлено размножение (при энергии >50 ед.) и расход энергии (0,01 ед./шаг).

**Результаты. Лабораторные эксперименты** выявили доминирующую роль типа воды. В морской среде (SW) наблюдалось значимое увеличение массы осевших частиц (DOWN) для всех полимеров по сравнению с дистиллированной водой (Dist). Наиболее выраженный эффект зафиксирован для PETE: соотношение DOWN/UP в SW достигло 19,5 (против 2,1 в Dist), что свидетельствует о почти полном осаждении. Для PVC в SW масса DOWN возросла в 7-8 раз (DOWN/UP ~0,69 против 0,07 в Dist). HDPE, несмотря на 10-кратный рост массы DOWN в SW, сохранил высокую плавучесть (DOWN/UP ~0,17). Важно отметить, что спектр света (WL/BL) не оказал значимого влияния на распределение частиц. Полученные данные указывают на биообрастание как основной механизм осаждения в морской воде, связанный с увеличением плотности частиц из-за формирования биоплёнки.

**Результаты моделирования** качественно согласуются с экспериментальными данными. Базовый сценарий показал накопление агентов на поверхности за счёт адгезии. В трофическом сценарии наблюдались колебания численности агентов из-за хищничества (популяционные волны). Наиболее реалистичный энергетический сценарий продемонстрировал смену сообщества: после начального роста численности «бактерий» и «амёб» происходил заключительный рост «моллюсков» (аналог тяжёлых диатомовых водорослей в природе), что визуализировалось заполнением поверхности оранжевыми агентами – «моллюсками». Эта динамика подтверждает роль колонизации сложными сообществами в увеличении плотности частиц и их последующем осаждении.

**Обсуждение.** Представленные результаты подчёркивают двойственную роль биообрастания в судьбе микропластика. С одной стороны, интенсивная колонизация поверхности в морской воде (эксперимент) и симуляция накопления «тяжёлых» агентов (модель) объясняют увеличение осаждения PETE и PVC. Это приводит к быстрому удалению МП из фотической зоны, где солнечное излучение (особенно УФ) является основным фактором его естественного разрушения (фотодеградаци). Таким образом, биообрастание может косвенно замедлять деградацию, «консервируя» пластик в глубинных слоях. С другой стороны, сама биоплёнка потенциально способна ускорять разрушение полимеров за счёт выделения микробами внеклеточных ферментов или активных форм кислорода (био-фотодегградация). Однако, в рамках данного двухнедельного эксперимента прямое подтверждение деградации (например, потеря массы полимера или изменение его структуры) не получено. Отсутствие влияния спектра света (синий/белый) может объясняться недостаточной длительностью экспозиции для проявления различий в фотолитическом распаде на фоне мощного эффекта биообрастания.

**Закключение.** Комплексное исследование, сочетающее лабораторные эксперименты и агентно-ориентированное моделирование, позволило сделать следующие выводы:

1. Биообрастание – ключевой фактор вертикальной миграции микропластика в морской среде, вызывающий значительное осаждение частиц PETE и PVC.
2. Удаление МП из фотической зоны посредством осаждения потенциально снижает скорость его основного пути деградации – фотоллиза, несмотря на возможный каталитический вклад биоплёнки в биоразложение.
3. Разработанная модель адекватно воспроизводит динамику колонизации поверхности и сукцессию сообществ пластисферы, подтверждая роль сложных обрастателей (диатомей) в осаждении.

Для верификации механизмов биоразложения и влияния спектра света требуются длительные эксперименты с применением ИК-спектроскопии и хеометрического анализа. Учёт выявленных закономерностей критически важен для построения точных моделей транспорта и трансформации микропластика в морских экосистемах и оценки связанных с ним экологических рисков.

## АКУСТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА БИООБРАСТАНИЕ ПРЕДМЕТНЫХ СТЕКОЛ В РЕЗЕРВУАРАХ С МОРСКОЙ ВОДОЙ

### Acoustic Effect on Biofouling of Glass Slides in Seawater Tanks

Пепин И.С.<sup>1</sup>, Ревков Н.К.<sup>2</sup>, Неврова Е.Л.<sup>2</sup>, Кузнецов А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

<sup>2</sup> ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Морское биообрастание значимо в свете эколого-экономических последствий, связанных с эксплуатационными затратами оборудования и ухудшением состояния экосистем. Обрастание кораблей, плавучих платформ и труб охлаждения электростанций, приводит к повышению гидросопротивления и расхода энергоресурсов, вызывая экономические потери [1]. Традиционная борьба с биообрастанием, как применение токсичных покрытий, имеет недостатки, включая загрязнение окружающей среды [2]. В отличие от работ, где использовали узкие диапазоны или уникальные частоты для конкретных организмов [3,4], мы применяли широкий спектр частот (0-30 кГц) и маломощный звуковой излучатель (5 Вт), что меньше, чем в установках, вызывающих кавитацию [3,4]. Целью было исследование акустического воздействия на биообрастание в контролируемых условиях.

**Методика.** Сообщество перифитона Чёрного моря исследовали во второй половине 2024 г в модельных экспериментах при комнатной температуре. Использовали две полиэтиленовые ванны объёмом по 30 л. Воду брали в Артиллерийской бухте возле ИнБЮМа. Замену воды проводили от 2 до 4 раз в месяц. Одна ванна служила контролем, в другую установили пьезоизлучатель SFM-27, герметизированный полиэтиленовой плёнкой. Звукоизлучатель работал в диапазоне частот от 0 до 30 кГц, с шагом 1 Гц и длительностью импульсов по 10 мс. Предметные стекла были закреплены на пенопластовых поплавках и помещены по 6 штук в каждую ванну. Для освещения использовали лампу GLF-600-8BT-FITO, что позволило создать условия для фотосинтеза и стимулировать рост микроводорослей, которые играют важную роль в формировании сообщества обрастателей. Наблюдение продолжалось от 4 до 6 месяцев. Для оценки процесса обрастания, каждое стёклышко помещали в чашку Петри с морской водой и исследовали под микроскопами Микромед MC4 Zoom LED с видеоокуляр Микромед Эврика 1.3 MP (до × 50) и Carl Zeiss Axiostar+ (× 400). Биоплёнку фиксировали в 6 % формалине.

**Результаты.** На предметных стёклах при увеличении × 50 отмечено, что в светлом полисахаридном матриксе присутствуют редкие колонии микроводорослей. При × 400 обнаружены различные виды диатомей: *Amphora* sp., *Cocconeis* sp., *Navicula* sp., *Berkeleya* sp., *Nitzschia* sp., а также цианобактерия *Oscillatoria* sp.. На стёклах в контрольной емкости обнаружен более высокий уровень биообрастания: большая плотность поселения подвижных инфузорий, коловраток, круглых червей, а также спат двусторчатых моллюсков и многостетинковый трубчатый червь семейства Serpulidae на нижней поверхности одного из поплавков. В эксперименте плотность указанных организмов была ниже, моллюски полностью отсутствовали, а домики трубчатых червей были пустые.

**Обсуждение.** Акустическое воздействие влияет на биообрастание морских объектов, открывая новые возможности для разработки энергосберегающих технологий. Концепция исследования влияния звука на сообщество перифитона отличается от таковой в предыдущих работах, которые сосредоточивались на отдельных видах морских обрастателей, как мидии [5]. Здесь изучалось влияние звуковых волн на сообщество перифитона в целом, что позволило выявить эффекты, связанные с нарушением взаимодействий между организмами. Результаты согласуются с выводами о влиянии ультразвука на биообрастание [3,4]. Вероятно, импульсное воздействие звука в изменяющемся диапазоне от 0 до 30 кГц, с шагом 1 Гц влияет на жизненные функции организмов, что приводит к нарушению процессов прикрепления к поверхности [5,6]. Гидробионты обладают рецепторами звука, которые могут участвовать в восприятии акустических сигналов и вызывать реакции на них [7-9], что связано со способностью организмов к адгезии, взаимодействию друг с другом и с окружающей средой.

**Закключение.** Звуковое воздействие представляет собой неинвазивный и нетоксичный метод борьбы с биообрастанием, что особенно важно для экосистем, в которых использование химических средств нецелесообразно. Эксперименты свидетельствуют, что импульсное воздействие звука с постоянно изменяющейся частотой может нарушать взаимодействие между организмами, влиять на прикрепление к субстратам и рост гидробионтов. Полученные результаты открывают новые перспективы для дальнейших исследований, направленных на применение звуковых технологий в контроле и предотвращении биообрастания в качестве альтернативы традиционным химическим методам при защите технических объектов от негативного воздействия обрастателей.

1. Amara et al. Antifouling processes and toxicity effects of antifouling paints on marine environment. A review // Environ. Toxicol. Pharmacol., 2018, vol. 57, pp. 115-130.
2. Звягинцев и др. Обрастание морских систем технического водоснабжения и анализ методов защиты от обрастания в водоводах (аналитический обзор) // Вода: химия и экология, 2015, № 1, с. 37-60.
3. Долгопольская М.А. Аксельбанд А.М. Действие ультразвуковых колебаний на организмы морских обрастаний и процесс обрастания // Тр. Севаст. Биостанции, 1964, т. 17, с. 309-324.
4. Неврова и др. Экспериментальное изучение воздействия ультразвука на микроперифитон искусственных субстратов с целью защиты от биопомех систем технического водоснабжения АЭС // Экологическая безопасность прибрежных и шельфовых зон моря, 2023, № 3, с. 98-113.
5. Кузнецов и др. Структура механорецепции и способность к адгезии у молоди мидии *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) при воздействии ультразвука // Системы контроля окружающей среды, 2023, № 4 (54), с. 41-51.
6. Савицкий и др. Можно ли использовать звук в качестве инструмента для контроля или управления нежелательным морским биообрастанием? // XI Международная конференция молодых учёных: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины - 2024: сб. тез. / АНО «Инновационный центр Кольцово». Новосибирск: ИПЦ НГУ, 2024, с. 313-314.
7. Кузнецов А.В., Втюрина Д.Н. Пространственная реконструкция TRPC-механорецепторов гребневика *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 // Молекулярная биология, 2023, т. 57, № 4, с. 726-735.
8. Kuznetsov A.V. et al. Spatial Models of Piezo Proteins and Protein-Protein Interaction Networks in Trichoplax Animals (Placozoa) // Molecular Biology, 2023, vol. 57, no. 5, pp. 905-912.
9. Фадеева и др. Изучение гидроакустических воздействий на *Mnemiopsis leidyi* и *Danio rerio*: роль TRP-рецепторов // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2024, т. 9, № 1, с. 39-44.

## БИОФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭКОСИСТЕМЫ КРЫМСКОГО ШЕЛЬФА

### Biophysical characteristics of the Crimean Shelf Ecosystem

Пионтковский С.А.<sup>1</sup>, Мельник А.В.<sup>2</sup>, Загородняя Ю.А.<sup>2</sup>, Артемов Ю.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [spiontkovski@mail.ru](mailto:spiontkovski@mail.ru)

<sup>2</sup> Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Крымский шельф уникален своей ролью в многоплановой жизни России. Эту уникальность формирует сочетание разнообразных ресурсов (минеральных, земельных, нефтегазовых, рекреационных, рыбных, и др.) на небольшом полуострове. Ширину шельфа определяют по изобате 100-метровой или 200-метровой глубины [1], от Керченского пролива на востоке до государственной границы в Каркинитском заливе, на западе. Ширина варьирует от десятков метров до десятков километров, что сказывается на экологической емкости экосистемы шельфа, под которой понимают вместимость экосистемы в отношении изучаемого компонента (например, биомассы организмов). Фотосинтетически активная часть солнечной радиации, система ветров, концентрации растворенного кислорода, биогенных соединений, термохалинная структура и динамика вод формируют пространственно неоднородную структуру биотопа планктонного и бентосного сообществ шельфа. На основе анализа опубликованных статей, материалов экспедиционных исследований 2010-2025-х годов (таблица 1) и дистанционного зондирования верхнего слоя моря рассмотрены характерные свойства пространственной и временной изменчивости концентрации хлорофилла-а, взвешенного органического вещества, интенсивности биолюминесценции планктона, звукорассеивающих слоев, биомасс зоопланктона и зообентоса в связи с пространственной неоднородностью биотопов.

В экспедиционных исследованиях использовались погружные комплексы *SBE-911 plus*, **IDRONAUT OCEAN SEVEN 320**, и «Сальпа-М», характеризующие термохалинную структуру и оптические свойства верхних слоев (фотосинтетическую активную радиацию, флуоресценцию хлорофилла *a*, и биолюминесценцию планктона). Для оценок слоистости использованы данные гидроакустических измерений эхолотами *FURUNO FCV 1200* и *Lowrance Elite 7 Ti*, на частотах 50 и 200 кГц. Сбор проб фитопланктона и зоопланктона выполнен с помощью батометров и сетей Джеди с размером ячеек фильтрующего сита 140-150 мкм. Среднемесячные временные серии дистанционных измерений сканером «MODIS-Aqua» с пространственным разрешением 4 км были загружены из интерактивных баз данных (<http://oceancolor.gsfc.nasa.gov>; <https://giovanni.gsfc.nasa.gov>).

Таблица 1. Общая характеристика экспедиционных исследований

Номер рейса НИС «Профессор Водяницкий»	Период экспедиционных работ	Количество океанографи- ческих станций	Количество зондирован- ий «Сальпа- М»	Количество станций отбора проб планктона
64	01.07–06.07.2010	31	142	17
70	18.08–29.08.2011	45	451	40
87	30.06–18.07.2016	106	990	-
95	14.06–04.07.2017	113	-	10
96	19.07–09.08.2017	106	578	49
102	09.06–01.07.2018	122	583	44
103	28.08–20.09.2018	147	-	-
108	11.07–05.08.2019	174	789	40
113	04.06–29.06.2020	164	447	52
128	03.08–21.08.2023	107	299	66
133	11.09–03.10.2024	100	116	56
134	13.03–08.04.2025	48		36

Приведены характерные кросс-шельфовые и вдоль шельфовые градиенты биофизических параметров. Анализируется феномен слоистости планктонного сообщества и его сезонная изменчивость. Анализ пространственно-временной динамики взвешенного органического вещества имеет также и медицинский аспект, т.к. взвесь может служить субстратом для транспорта болезнетворных вирусов в прибрежных водах (от коллекторов очистных сооружений в пляжную зону) и влиять на распространенность острых кишечных инфекций водного происхождения (особенно в летний сезон). Например, в период с 2014 по 2018 годы сброс сточных вод по республике Крым увеличился в три раза [2], что ухудшает санитарное состояние прибрежных вод, т.к. большая часть стоков из коллекторов очистных сооружений поступает в море без очистки. В презентации (также) обсуждается влияние антропогенного загрязнения на биомассу организмов жизненные циклы которых связывают пелагиаль и бенталь. Одним из их примеров являются медузы *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758) и двусторчатые моллюски личиночные стадии которых обитают в планктоне. В этой связи рассмотрена экологическая ситуация с разливом около 4000 тон мазута в Керченском проливе, в декабре 2024 года из двух затонувших судов. Многоплановые убытки оценены правительством Российской Федерации в 85 млрд. рублей. Растущая интенсивность использования биофизических параметров в качестве индикаторов состояния структуры и функционирования экосистемы шельфа указывает на необходимость совершенствования и унификации методологии мониторинга и внедрения на федеральном уровне, т.к. Российской Федерации принадлежат шельфы 13 морей, что составляет около 5 млн.кв.км (почти 20% площади шельфа Мирового океана).

1. Иванов В.А., Белокопытов В.Н. *Океанография Черного моря*. Севастополь.: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. 209 с.
2. Демченко Н.П., Полякова Н.Ю. // Экономика строительства и природопользования, 2020, т. 2, вып. 75, с. 5-14., doi: 10.37279/2519-4453-2020-2-5-14.

## **САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНЫХ И ПИТЬЕВЫХ ВОД И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ** **Sanitary and Microbiological Condition of Surface and Drinking Water and Modern Control Methods**

**Рубцова С.И.<sup>1</sup>, Андреева Н.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [rsi1976@mail.ru](mailto:rsi1976@mail.ru)

<sup>2</sup> Институт природно-технических систем, Севастополь, РФ, [andreeva.54@list.ru](mailto:andreeva.54@list.ru)

Все живые организмы на Земле, в том числе и человек, не могут существовать без воды. С позиций таких медицинских дисциплин, как физиология, гигиена и санитарная микробиология, вода, используемая человеком, рассматривается не как однородный элемент окружающей среды, а как совокупность различных типов водных объектов, для каждого из которых действуют специфические требования, обусловленные характером их применения. Независимо от функционального назначения, все эти объекты должны соответствовать критерию эпидемиологической безопасности.

С целью контроля за качеством воды были разработаны соответствующие нормативные документы [1]. Настоящие методические рекомендации определяют подходы к санитарно-вирусологическому контролю качества воды различных категорий в зависимости от характера водопользования и степени загрязненности. Основное внимание уделяется обеспечению эпидемиологической безопасности воды на основании санитарно-

вирусологических критериев, предусмотренных действующими нормативными документами, включая: СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества» [2]; СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод» [3]; СанПиН 2.1.4.1175-02 «Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников» [4]; СанПиН 2.1.2.1188-03 «Плавательные бассейны. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды. Контроль качества»; СанПиН 2.1.4.1116-02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству расфасованной воды. Контроль качества» [5].

Вопрос доступности безопасных поверхностных и питьевых вод в мире становится все более острым, что обуславливает возрастающую актуальность поиска эффективных стратегий для поддержания их санитарного благополучия. Качество воды, которую мы используем, неразрывно связано с экологическим состоянием природных водоемов. Отсюда следует, что обеспечение высокого качества воды требует постоянной модернизации законодательной базы и совершенствования управленческих механизмов по охране и рациональному использованию природных и питьевых вод.

На международном уровне предпринимаются попытки по унификации методов отбора и анализа проб воды для выявления широкого спектра патогенных микроорганизмов. Однако значительная часть водных патогенов по-прежнему трудно поддается выявлению из-за ограничений существующих аналитических подходов.

При проведении микробиологических исследований воды из бассейнов и прибрежной морской акватории особое значение приобретает определение патогенных стафилококков. Их присутствие свидетельствует о поступлении загрязнений с кожных покровов и верхних дыхательных путей человека и животных. Большинство патогенных бактерий имеют ограниченную способность к выживанию в водных экосистемах, поскольку подвергаются воздействию различных абиотических и биотических факторов, включая конкуренцию со стороны аборигенной микробиоты. Однако известно, что некоторые патогены способны длительное время сохраняться в донных отложениях.

Для обнаружения сточных вод и других антропогенных загрязнителей в поверхностных водах сейчас все чаще используется флуоресцентная спектроскопия. Недавние достижения в области полевых технологий обнаружения открывают возможности для исследования как пространственной, так и временной динамики микробного загрязнения более определенным и экономически эффективным способом.

В результате проведенного анализа актуальных данных о санитарном состоянии и санитарно-значимой микрофлоре, присутствующей в источниках водоснабжения, в том числе, в питьевой воде, установлено, что единые нормативные санитарные показатели на сегодняшний день всё ещё не выработаны. Современные данные позволяют расширить представления о количественном и качественном составе микроорганизмов в поверхностных и питьевых водах, однако это пока не является основанием для пересмотра санитарных нормативов. Бактериологические методы контроля являются основными при оценке микробиологического состояния водных экосистем, в то же время внедрение современных высокотехнологичных технологий оценки загрязнения не обеспечивает полной гарантии безопасности питьевой воды. В этой связи особый интерес представляют предложения по комбинированному использованию качественных и количественных показателей, что может способствовать более точному мониторингу и эффективному контролю за качеством водоснабжения. Внедрение новых инструментальных методов исследований санитарно-микробиологического состояния поверхностных и питьевых вод, безусловно, внесет значительный вклад в решение вопроса качества водопользования населения.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Института природно-технических систем (№ госрегистрации 124013000609-2).*

1. МУК 4.2.2029-05. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Санитарно-вирусологический контроль водных объектов. Методические указания" (утв. Роспотребнадзором 18.11.2005) // <https://legalacts.ru/doc/muk-422029-05-42-metody-kontrolja-biologicheskie-i/>

2. СанПиН 2.1.4.1074-01 "Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества" [https://klinvodokanal.ru/docs/sanpin\\_2.1.4.1074-01.pdf?ysclid=mcwz8vqrn6509671081](https://klinvodokanal.ru/docs/sanpin_2.1.4.1074-01.pdf?ysclid=mcwz8vqrn6509671081)

3. СанПиН 2.1.5.980-00 "Гигиенические требования к охране поверхностных вод" [https://energy.midural.ru/images/Upload/2017/101/SANPIN\\_2.1.5.980\\_VOD.pdf](https://energy.midural.ru/images/Upload/2017/101/SANPIN_2.1.5.980_VOD.pdf)

4. СанПиН 2.1.4.1175-02 "Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников" <https://ural-gidro.com/upload/files/normdocs/SanPiN-2.1.4.1175-02-Gigienicheskie-trebovaniya-k-kachestvu-vodi-necentralizovannogo-vodosnabjeniya.pdf?ysclid=mcx0rnk4vp83446441>

5. СанПиН 2.1.2.1188-03 "Плавательные бассейны. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды. Контроль качества"; СанПиН 2.1.4.1116-02 "Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества" <https://spb.goodpools.ru/wp-content/uploads/2020/02/SanPin-2.1.2.1188-03.pdf>

# МОДЕЛИРОВАНИЕ АВТОВОЛНОВЫХ ПРОЦЕССОВ В СООБЩЕСТВЕ ПЛАНКТОННЫХ ОРГАНИЗМОВ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ БЕЛОУСОВА-ЖАБОТИНСКОГО Modeling of Autowave Processes in a Community of Planktonic Organisms using the Belousov-Zhabotinsky Reaction

Рыбакова К.А.<sup>1</sup>, Кузнецов А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

<sup>2</sup> Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ

Автоволны – это самоподдерживающиеся нелинейные волны в активных средах, которые являются распределёнными аналогами автоколебаний в сосредоточенных системах [1-4]. Моделирование автоволновых процессов в биофизике и экологии необходимо для понимания взаимодействий между биологическими видами [5]. У планктонных организмов автоволны могут играть ключевую роль в регуляции численности видов. В данной работе мы исследовали автоволновые процессы в сообществе планктонных организмов с помощью реакции Белоусова-Жаботинского [6]. Мы использовали программу `planctonBCR.py` для моделирования пространственной динамики планктонного сообщества [7].

**Математическая модель.** Модель разработана на основе системы уравнений в частных производных, описывающих динамику трех групп организмов, например, фитопланктона (А), зоопланктона (В) и бактерий (С), которые взаимодействуют между собой через отношения, аналогичные реакции Белоусова-Жаботинского, адаптированной к контексту планктонных взаимодействий.

**Программная реализация.** Программа `planctonBCR.py` реализует моделирование динамики трехкомпонентной системы с использованием реакционно-диффузионного подхода. Она исследует пространственные и временные изменения в концентрациях групп организмов (А, В и С) и визуализирует результаты моделирования. Программа включает инициализацию (импорт необходимых библиотек, как `numpy`, `scipy`, `matplotlib`, а также `csv`). Задаются размеры поля и параметры реакции (`alpha`, `beta`, `gamma`), которые контролируют взаимодействие между компонентами. Основная функциональность программы реализована в функции `update`, которая обновляет 4d массив `concentration`. Функция использует свертку для получения средних значений концентраций из соседних клеток. Реакционные уравнения описывают динамику изменения концентраций видов А, В и С, учитывая эффекты взаимодействия и ограничивая значения концентраций в пределах от 0 до 1. Программа включает несколько функций для расчета волновых структур: период волны (`calculate_wave_period`) – используется быстрое преобразование Фурье (FFT); контраст (`calculate_contrast`) – разница между максимальными и минимальными значениями концентрации А; средний размер кластеров (`calculate_average_size_of_dominant_patches`); пороговая концентрация (`calculate_threshold_concentration`) необходимая для инициирования волновых движений. С помощью `matplotlib` создается визуализация изменения концентрации А во времени. Программа выводит анимацию, которая обновляет изображение на основе текущего состояния системы и записывает результаты по каждому итерационному шагу (каждую секунду) в CSV файл, обеспечивая тем самым возможность дальнейшего анализа.

**Результаты моделирования.** Моделирование динамики планктонного сообщества выявило развитие выраженных пространственных неоднородностей из первоначально однородного распределения (рис. 1). На начальном этапе (0 сек) система демонстрирует равномерное распределение всех трех компонентов с незначительными флуктуациями концентраций в пределах  $\pm 0,01$  уе. В течение первых 30 секунд моделирования сформировались первичные кластеры диаметром 800 пикселей, где концентрация А достигала 0,51 уе. К 60 секундам наблюдалось образование устойчивой волновой структуры и увеличение контраста между максимумами и минимумами (0,11 уе.), появление вторичных спиральных волн. На завершающей стадии (90-180 сек) система достигала квазистационарного состояния, где средний размер доминирующих пятен составлял  $3045,3 \pm 1775,67$  пикселей, скорость распространения волн –  $5 \pm 1$  пикселей/сек. Полученные паттерны демонстрируют типичные признаки автоволнового процесса, включая спонтанное нарушение симметрии, наличие порогового значения концентрации (0,51 уе.) для инициации волн и устойчивость к малым возмущениям начальных условий.

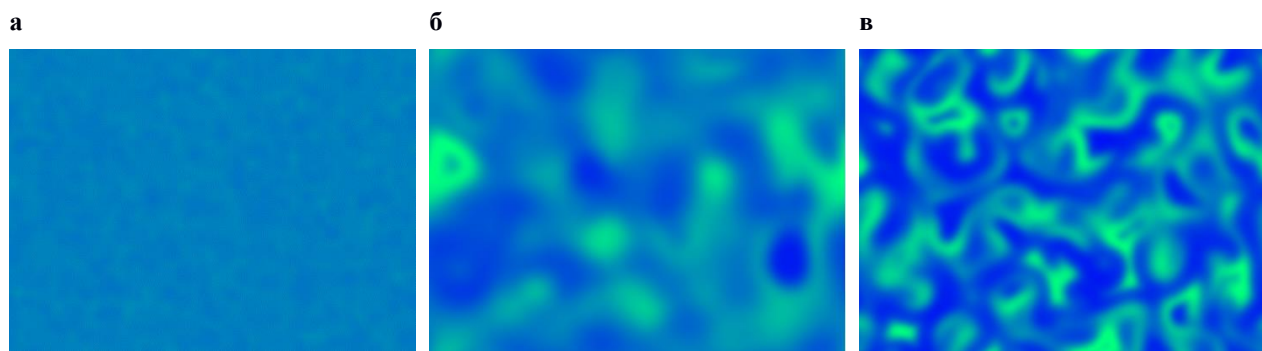


Рисунок 1. Динамика автоволнового процесса, а) 0 сек, б) 60 сек, в) 120 сек

Наблюдаемая динамика качественно согласуется с полевыми данными по распределению фитопланктона в фронтальных зонах [8], что подтверждает адекватность использованных параметров взаимодействия ( $\alpha=0,1$ ,  $\beta=0,1$ ,  $\gamma=0,1$ ) для моделирования реальных экологических процессов. Изменение параметров реакции могло вызывать переходы между различными типами паттернов.

**Закключение.** Эта программа позволяет анализировать качественные изменения в динамической системе. Применение реакционно-диффузионного подхода, наряду с визуализацией и анализом данных, делает данную программу полезным инструментом в области экологии. Моделирование автоволновых процессов в сообществе планктонных организмов с помощью реакции Белоусова-Жаботинского позволило нам получить новые сведения о сложных динамических взаимодействиях в экосистемах. Результаты указывают на важность учета нелинейных эффектов и пространственной структуры при изучении экологических систем.

1. Turing A. The Chemical Basis of Morphogenesis // Philosophical Transactions of the Royal Society of London B., 1952, vol. 237, no. 641, pp. 37-72.
2. Кринский В.И., Михайлов А.С. Автоволны. М.: Знание, 1984, 64 с.
3. Васильев В.А., Романовский Ю.М., Яхно В.Г. Автоволновые процессы. М.: Наука, 1987, 240 с.
4. Лоскутов А.Ю., Михайлов А.С. Введение в синергетику: Учеб. Руководство, М.: Наука, 1990, 272 с.
5. <https://www.dmb.biophys.msu.ru/registry?article=9821>
6. Zhabotinsky A.M., Zaikin A.N. Autowave processes in a distributed chemical system // Journal of Theoretical Biology, 1973, vol. 40, no. 1, pp. 45-56.
7. Савицкий М.А., Кузнецов А.В. Фракционирование планктона с помощью последовательной фильтрации и построение пирамид биоразнообразия // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2023, т. 8, № 1, с. 99-110.
8. Гладыш М.А., Челядина Н.С., Кузнецов А.В. Сообщество морского планктона как активная среда // Биосфера, 2025, т. 17 (2), с. 83-107.

## РАЗВИТИЕ ГИПОХРОМНОЙ АНЕМИИ НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ КЕФАЛИ-СИНГИЛЯ (*CHELON AURATUS* RISSO, 1810)

### The Development of Hypochromic Anemia in the Early Stages of the Development of Golden Mullet (*Chelon Auratus* Risso, 1810)

Солдатов А.А.<sup>1,2</sup>, Рокотова А.Г.<sup>1</sup>, Кухарева Т.А.<sup>1</sup>, Рычкова В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,  
[alekssoldatov@yandex.ru](mailto:alekssoldatov@yandex.ru)

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Кефалиевые (сем. Mugilidae) в азово-черноморском регионе представлены тремя аборигенными видами: сингилем (*Chelon auratus*, Risso 1810), остроносом (*Chelon saliens*, Risso 1810), лобаном (*Mugil cephalus*, Linnaeus 1758) и интродуцентом – пиленгасом (*Mugil so-iiuy*, Basilewsky 1855). Сингиль составляет основу промысловых скоплений кефалей (до 95 %), относится к теплолюбивой пелагофильной группе рыб, предпочитающей морские акватории. Половой зрелости достигает в возрасте 3-4 лет. Продолжительность жизни составляет 12-15 лет. Выращивание сингиля в условиях рыбоводных хозяйств показало, что данный вид является весьма чувствительным к содержанию кислорода в воде. В возрасте до 3-х лет часто отмечается существенный отход посадочного материала с явными признаками асфиксии. Изучению природы данной чувствительности и посвящена настоящая работа.

Работа выполнена на разновозрастных особях кефали-сингиля (*Chelon auratus* Risso, 1810): сеголетках (3,0-5,3 см), годовиках (6,8-9,3 см), 2-х и 3-х летках (13,0-15,0 см; 16,3-20,0 см). Материал был получен одномоментно в марте-апреле на кефалевом заводе. Температура воды составляла 10-11°C. Кровь у сеголетков получали путем отсечения хвостового стебля, у годовиков 2-х и 3-леток пункцией хвостовой артерии. В качестве антикоагулянта применяли гепарин (Рихтер, Венгрия). Концентрацию гемоглобина в крови определяли при помощи гемиглобинцианидного метода. В работе использовали стандартный набор реактивов (Агат, Россия). Число эритроцитов и лейкоцитов в крови подсчитывали в камере Горяева. На основании полученных значений рассчитывали среднечеточное содержание гемоглобина в эритроците (МСН). Одновременно изготавливали мазки крови, которые окрашивали по комбинированному методу Паппенгейма (Май-Грюнвальд + Романовский-Гимза). Препараты просматривали и фотографировали при помощи светоптического микроскопа Biomed PR-2 Lum, оборудованном камерой Levenhuk C NG Series. Линейные размеры клеток крови определяли по фотографиям в компьютерной программе ImageJ 1.44р. Процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов (лейкоцитарная формула) рассчитывали исходя из объема выборки 200 клеток белой крови на мазок.

Установлено, что в первый год жизни кефали-сингиля происходит активное наращивание циркулирующей эритроцитарной массы. Уровень полихроматофильных нормобластов, отражающий интенсивность эритропоэтических процессов в гемопоэтической ткани, в периферическом русле сеголетков достигает



максимальных значений. Внутриклеточный синтез гемоглобина при этом происходит с меньшей интенсивностью. Это сопровождается появлением в крови гипохромных эритроцитов. Величина среднечеточного содержания гемоглобина (МСН) находится на минимальном уровне ( $28,9 \pm 0,8$ ) пг (у трехлеток – ( $37,1 \pm 0,8$ ) пг). В крови сеголетков и годовиков доминируют крупные клетки красной крови ( $96,9 \pm 4,1$ ) мкм<sup>3</sup> с высокими значениями ядерно-цитоплазматического отношения (NCR):  $0,121 \pm 0,011$ . Индекс NCR понижается ко второму году жизни по мере роста МСН ( $R^2 0,851$ ). В крови годовиков отмечается высокое содержание эритроцитарных аномалий (до 14 % эритроидных клеток): дакриоциты, клетки с инвагинацией ядра, эритроцитарные тени. Присутствие дакриоцитов в крови данной возрастной группы отражает развитие состояния гипоксии.

У годовиков сингиля отмечали также максимальное число лейкоцитов в крови: ( $48,5 \pm 3,7$ ) клеток ( $10^3$ ) мкл<sup>-1</sup>. Это совпадало с развитием гипохромной анемии и лизисом части циркулирующей эритроцитарной массы. В крови данной возрастной группы происходило увеличение содержания моноцитов и палочкоядерных нейтрофилов. В последнем случае рост составил 7,0-7,5 раз. У двухлеток наблюдали существенное смещение лейкоцитарной формулы в сторону полиморфноядерных нейтрофилов, на долю которых приходилось более 35 % от общего числа клеток белой крови.

Однако к трехлетнему возрасту ситуация полностью стабилизировалась. Содержание эритроцитарных аномалий, число лейкоцитов, моноцитов и клеток гранулярного ряда в крови достигало минимальных значений. Объем клеток красной крови уменьшался, а содержание гемоглобина в них достигало максимальных значений – (38-40) пг.

Из представленных результатов следует, что первый год в жизненном цикле кефали-сингиля является наиболее критичным. Развитие гипохромной анемии скорее следует рассматривать как естественное состояние характерное для данного вида. Это необходимо учитывать при разведении кефали-сингиля в условиях рыбоводных хозяйств. В первые 2 года жизни следует усилить водообмен, применять принудительную аэрацию, пересмотреть рацион питания – повысить содержание солей железа в кормах.

*Работа выполнена в рамках государственного задания № 124030100137-6.*

## ПОДЛЕДНАЯ ДИНАМИКА КИСЛОРОДА И ТЕМПЕРАТУРЫ В МАЛОМ ЛЕСНОМ ОЗЕРЕ (ПРИБАЙКАЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПАРК): РОЛЬ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

**Under-Ice Dynamics of Oxygen and Temperature in a Small Forest Lake (Pribaikalsky National Park): The Role of Abiotic and Biotic Factors**

Шадрин Н.В.<sup>1,2</sup>, Григорьев М.Н.<sup>1,2</sup>, Мутин А.Д.<sup>3</sup>, Щапова Е.П.<sup>3</sup>, Помазкин В.К.<sup>3</sup>, Широкова Ю.А.<sup>3</sup>, Ануфриева Е.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, [lena.anufrieva@ibss-ras.ru](mailto:lena.anufrieva@ibss-ras.ru)

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, [misha79788961008@xmail.ru](mailto:misha79788961008@xmail.ru)

<sup>3</sup> Институт биологии Байкала Иркутского государственного университета, г. Иркутск, РФ, [shchapova.katerina@gmail.com](mailto:shchapova.katerina@gmail.com)

Растворенный кислород (РК) и температура воды (Т) являются одними из основных факторов, влияющих на ход химических и биологических процессов в водоемах [1]. Учитывая уменьшение растворимости кислорода в воде с ростом температуры, можно предположить негативную зависимость между этими факторами. Имеется довольно много работ, описывающих суточную и сезонную динамику РК и Т в различных водоемах. Однако исследований в этом направлении все еще мало, чтобы понять всю сложность взаимосвязей, определяющих их изменчивость на различных временных шкалах. Особенно мало таких работ в условиях, когда малые водоемы покрыты льдом. Модельным водоемом было небольшое лесное озеро (Прибайкальский национальный парк), где в начале ледового периода (25.10.2021) установили логгер (HOBOTM Dissolved Oxygen Logger, U26-001, USA), который каждые 30 минут записывал значения РК и Т до 10.04.2022. Получено по 8023 значений каждого параметра. В течении всего периода наблюдений изменения РК и Т имели совершенно разный характер. РК в первый 21 день, колеблясь, плавно уменьшался с 6,9 г/л до нуля, затем оставался нулевым до 7 марта 2022 г., когда начался быстрый подъем РК с нуля до 7,9 г/л 10 марта, затем происходили квазисуточные колебания. Т плавно убывала с начала наблюдений и до середины марта, с 4,48°C до 0,24°C. РК и Т изменялись не скоррелировано, т.е. можно предположить, что изменения Т определялись не биологическими причинами. Даже при высокой биомассе организмов и высокой температуре суммарная теплопродукция биомассы практически не влияет на Т водной среды [3]. Во время подледного периода обмен кислородом водоема с атмосферой практически отсутствует, соответственно концентрация кислорода целиком определяется соотношением величин суммарного фотосинтеза и дыхания.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-66-00001.*



1. Shadrin N., Latushkin A., Yakovenko V. et al. Daily and other short-term changes in the ecosystem components of the world's largest hypersaline lagoon Bay Sivash (Crimea) // *Regional Studies in Marine Science*, 2024, vol. 77, art. no. 103643, doi: 10.1016/j.rsma.2024.103643.
2. Пальшин Н.И., Ефремова Т.В., Здоровеннова Г.Э. и др. Суточная динамика растворенного кислорода в малом мезотрофном озере в период весеннего подледного прогрева // *Известия Русского географического общества*, 2019, т. 151, № 4, с. 27-39.
3. Mukhanov V.S., Naidanova O.G., Shadrin N.V., Kemp R.B. The spring energy budget of the algal mat community in a Crimean hypersaline lake determined by microcalorimetry // *Aquatic Ecology*, 2004, vol. 38, no. 3, pp. 375-385.