

Материалы XVI международной
научной конференции

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ
И ХИМИИ**

БФФХ - 2021



**СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

www.sevbppc.ru

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ**

БФФХ – 2021

*Материалы XVI международной научной конференции
г. Севастополь, 13-17 сентября 2021 г.*

**MODERN TRENDS IN BIOLOGICAL PHYSICS AND CHEMISTRY
BPPC – 2021**

*Proceedings of XVI International Scientific Conference
Sevastopol, 13-17 of September, 2021*

Севастополь 2021

УДК 577.113:541.49

ББК

28.07

28.07 Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2021: материалы XVI международной научной конференции, г. Севастополь, 13-17 сентября 2021 г. – Севастополь, 2021. – 236 с.

Сборник материалов составлен по итогам XVI международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2021», организованной совместно Севастопольским государственным университетом и Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова с 13 по 17 сентября 2021 г. в Севастополе.

В сборнике приведены материалы научных работ, посвященных актуальным вопросам общей и молекулярной биофизики, нанобиофизики, биофизики клетки, биофизики сложных систем, проблемам современной биоорганической, биофизической и медицинской химии.

Издание рассчитано на научных работников, аспирантов, студентов.

Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2021: proceedings of XVI International Scientific Conference, Sevastopol, 13-17 of September, 2021. – Sevastopol, 2021. – 236 p.

The proceedings is a compilation of the reports of XVI International scientific conference "Modern Trends in Biological Physics and Chemistry. BPPC-2021", organized by Sevastopol State University and Lomonosov Moscow State University 13-17 of September, 2021 in Sevastopol.

The proceedings contains materials of research papers, devoted to modern trends in general and molecular biophysics, nanobiophysics, cell biophysics, complex systems biophysics, problems of modern biological, biophysical and medicinal chemistry.

The publication is intended for scientists, postgraduate, students.

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:

Евстигнеев Максим Павлович, проректор по научной и инновационной 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, заведующий кафедрой, профессор, д.б.н. (Воронежский государственный университет, г. Воронеж);

Бержанский Владимир Наумович, заведующий кафедрой, д.ф.-м.н. (Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, г. Симферополь);

Заседателев Александр Сергеевич, профессор (Институт молекулярной биологии РАН, г. Москва);

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

Ризниченко Галина Юрьевна, профессор (Московский государственный университет, г. Москва);

Рууге Энно Куставич, профессор (ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России, г. Москва);

Тихонов Александр Николаевич, профессор (Московский государственный университет, г. Москва);

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

Яковенко Леонид Владимирович, профессор (Московский государственный университет, г. Москва).

PROGRAM COMMITTEE:

Evstigneev M.P., Vice-rector for Scientific and Innovation 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, Voronezh);

Berzhansky V.N., Head of Department (V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol);

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

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

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

Ruuge E.K., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

Tikhonov A.N., Professor, Ph.D. (Moscow State University);

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

Г.А. Агаева, У.Т. Агаева, Н.М. Годжаев Конформационные особенности антигипертензивного пептида IRW и его изомера LRW, полученных из пищевых белков	18
Г.А. Агаева, Г.Р. Сафарли, Н.М. Годжаев Сравнительный конформационный анализ молекулы гиламбатина и его фрагмента (5-12)	19
Л.М. Апашева, А.С. Дмитриев, А.В. Лобанов, И.А. Михайлова, Н.А. Рубцова, В.В. Савранский Суспензия графена в качестве регулятора роста растений	20
О.Е. Багрова, Е.В. Малышко, В.А. Твердислов Механические свойства белковых макромолекул	21
В.А. Бастаков, В.Ф. Гнубкин, П.В. Максимов, О.Ю. Орлов Кодирование цвета паттерном импульсов	21
Л.В. Беловолова, М.М. Беловолов, М.В. Глушков Роль активных форм кислорода в организации ритмических процессов в сильно разбавленных водных системах	22
Ю.Э. Бурункова, Д.С. Свяжина, А.А. Фисенко, И.Е. Стрельникова, М.Д. Левшиц, Д.Р. Мизина, И. Чарнович, Ш. Кокениши Разработка и исследование нанокompозитных покрытий на основе SiO ₂ -гидроксилалатитного комплекса для повышения биосовместимости металлических имплантов	23
Д.П. Воронин, Р.О. Мягченко, М.П. Евстигнеев Комплексообразование фуллерена C ₆₀ в водном растворе с противоопухолевыми ароматическими соединениями: доксорубицином, метиленовым голубым и профлавином	24
Р.А. Ганиева, С.А. Атакишиева, Р.А. Гасанов Эффект Na-аскорбата в защите активности ФС II в условиях одновременного действия Co ²⁺ и фотоингибирования	25
А.Е. Гасанова Электрофизиологический анализ кинетики изменения мембранного потенциала и устойчивости клеток <i>Chara fragilis</i> под действием тетраэтиламмония	25
Р.Г. Геворгиз, С.Н. Железнова, И.П. Уваров Гидрокарбонат натрия как источник углерода для интенсивного культивирования <i>Porphyridium purpureum</i> (Bory) Drew et Ross в промышленных масштабах	26
Р.Г. Геворгиз, И.П. Уваров, С.Н. Железнова Вихревое перемешивание культур микроводорослей	27
С.А. Голышев, О.Ю. Орлов Липидные капли могут заменять млекопитающим миелоидные тела в пигментном эпителии сетчатки	28
Ю.М. Горовой О критерии, характеризующем симметрию и структуру супрамолекулярной системы: молекула ДНК и её водное окружение	29
Н.С. Горячев Физические причины чередования хиральности в иерархической организации биологических структур	30
А.Е. Гурин, Е.Л. Гагаринский, Е.Е. Фесенко Исследование защитных свойств газовой смеси на основе монооксида углерода для продления сроков гипотермического хранения сердца	31

С.Б. Дадашева, И.М. Курбанова Растительные экстракты в защите фотосинтетических пигментов при окислительном стрессе	32
С.Н. Железнова, Р.Г. Геворгиз, В.С. Клочкова Оценка биомассы <i>Porphyridium purpureum</i> (Bory) Drew et Ross по оптической плотности культуры	32
Л.В. Заломова, С.В. Уграицкая, Е.Е. Фесенко Исследование выживаемости микробиоты кишечника человека после криоконсервации в жидком азоте.....	33
Ю.Ф. Зуев, А.Э. Ситницкий, А.М. Кусова Специфика ЯМР и динамического рассеяния света при изучении диффузионного поведения альбумина в присутствии низкомолекулярных лигандов	34
В.А. Кальпа, А.В. Гаджи, А.О. Лантушенко Влияние фуллерена C ₆₀ на окислительный стресс эритроцитов <i>Scorpena porcus</i> , индуцированный пероксидом водорода.....	35
А.И. Капитунова, И.Н. Доминова, В.В. Жуков Сравнительная оценка уровня транскрипции генов γ M-кристаллинов в тканях <i>Cyprinus carpio</i>	36
Е.Д. Каримова, Д.Д. Орехова Ритмическая активность мозга во время активного и пассивного восприятия.....	36
В.С. Клочкова, А.С. Лелеков Спектры поглощения плотных культур микроводорослей.....	37
Н.К. Кочарли, С.Т. Гумматова Влияние γ -излучения на люцигенин зависимую хемиллюминесценцию и дыхание клеток дрожжей.....	38
А.А. Олешкевич, С.А. Комарова Определение видовых и половоз-возрастных особенностей волос мелкого рогатого скота.....	39
Г.С. Охрименко, Е.Д. Каримова Решение обратной задачи ЭЭГ и интегральная оценка мощности в задаче анализа ритмов покоя.....	40
В.А. Панчелюга, М.С. Панчелюга О возможной внешней обусловленности спектра около-часовых периодов.....	41
В.В. Рощина, Л.А. Сергиевич, Л.А. Джалалян Тестирование биогенных аминов флуоресцентным методом после экспозиции живых объектов в озоне.....	42
И.В. Савельев, М.В. Мякишев Молекулярные механизмы и статистическое подтверждение резонансной передачи сигнала в геномных последовательностях.....	43
М.В. Сафонов, В.В. Жуков, В. Башлов Кальциевый компонент фототрансдукции в микровиллярных фоторецепторах <i>Lymnaea stagnalis</i>	44
М.А. Суслов Техника исследования скорости роста растительных клеток под воздействием внешнего повышенного давления.....	45
В.А. Твердислов Жизнь как космическое явление. Биофизические аспекты	46
Л.Л. Тевонян, А.Д. Бениаминов, Д.Н. Калюжный УФ флуоресценция ГТФ индуцируется связыванием ионов цинка.....	46
Т.А. Тихонова Влияние магнитного поля на образование биоплёнок бактериями <i>Bacillus subtilis</i>	47

С.В. Уграицкая, Н.В. Шишова, Е.Е. Фесенко Криоконсервация клеток HeLa и L929 в присутствии гелия	48
А.А. Хохлов, О.А. Рогачевская Выброс АТФ вкусовым эпителием – ex vivo мониторинг	48
А.Н. Чантурия Роль латерального натяжения в кальций-зависимом слиянии фосфолипидных мембран	49
Д.Н. Чернышев, В.С. Ключкова Разделение нативного спектра поглощения культуры микроводоросли <i>Spirulina platensis</i>	50
Ю.П. Чукова Энергетика биосферы как основа для прогноза развития нашей цивилизации	51
Ю.А. Яковлева, К.В. Шадрин, В.Г. Пахомова, С.В. Тарских, Г.В. Макарская, О.В. Крюкова Влияние наночастиц селена на время активации антиоксидантной системы в клетках асцитной карциномы Эрлиха	52

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ

Л.Н. Агаева, А.А. Абдинова, С.Р. Ахмедова, Н.Ф. Ахмедов, Н.А. Ахмедов Теоретический конформационный анализ молекулы цитохрофина 4	54
С.В. Аксенова, А.С. Батова, А.Н. Бугай, Э.Б. Душанов Моделирование основных ритмов гиппокампа с различными типами рецепторов NMDA	55
А.А. Андреева, А.И. Лобанов О свойствах математической модели свертывания крови с учетом активации тромбоцитов и связанного с ней производства фактора V	56
Н.А. Ахмедов, Л.Н. Агаева, Р.М. Аббаслы, Л.И. Исмаилова Пространственная структура молекулы казоксина А	56
Л.М. Бабков, М.Д. Москвитин, Н.А. Давыдова, Я. Баран Структурно-динамическая ангармоническая модель и ИК спектр 2-бензилфенола	57
А.В. Брильков, Ю.Ю. Логинов, Е.В. Брилькова, В.В. Ганусов Математическое моделирование экспериментальной эволюции трансгенных бактерий (ГМО) в модельных и природных экосистемах	58
Л.И. Велиева, Р.Э. Алиев Изучение электронной структуры и динамических свойств молекул аллатостатинов	59
Р.Г. Геворгиз, А.С. Лелеков Особенности поглощения углерода клетками цианобактерий	60
А.А. Глебов, Е.А. Колесникова, А.Н. Бугай Моделирование краткосрочного нарушения нейрогенеза взрослых вследствие острого облучения рентгеновскими лучами гиппокампа мышей C57BL	61
А.А. Гриневич, И.В. Тихонова, И.Е. Гусева, В.Г. Сафронова Математическое моделирование ответа фагоцитов крови на микробную провокацию у больных сахарным диабетом 2 типа	62
А.А. Губарев, С.В. Чуфицкий, С.М. Романчук Моделирование методом кинетического Монте-Карло первичных процессов фотосинтеза в фотосистеме II	63

А.А. Жуковская, В.В. Удут, В.П. Демкин Анализ влияния скорости сдвиговой деформации на адгезивно-агрегационные свойства эритроцитов	64
П.А. Жулидин, П.Д. Филин, И.Л. Пластун Молекулярное моделирование процесса синтеза сульфидов цинка в присутствии молекул флагеллина	65
Н.А. Захаров, Е.М. Коваль, М.А. Орлов, Е.В. Шелехов, А.Д. Алиев, Т.В. Захарова, М.Р. Киселёв, В.В. Матвеев Моделирование биоминерализации гидроксиапатита кальция в присутствии гиалуроновой кислоты (ГК) в системе $\text{CaCl}_2\text{-(NH}_4\text{)}_2\text{HPO}_4\text{-ГК-H}_2\text{O}$	66
А.А. Захаров, И.Л. Пластун, А.А. Наумов Сравнительный анализ взаимодействия метиллина и солей рабочего раствора в ходе биосинтеза наночастиц сульфида цинка и сульфида серебра: молекулярное моделирование	67
К.В. Зубова, В.А. Кузнецова, А.Ж. Аль-Альвани, Е.В. Глинская, Е.Г. Глуховской Исследования ленгмюровских монослоев фосфолипидов, выделенных из мембран тест-культуры <i>E. coli</i> K-12	68
A. Zuniga Mora, J.A. Arzola Flores, E. Vidal Robles, A.A. Hernandez Santiago, J.F. Rojas Rodriguez Implementation of supervised learning algorithms for predicting of coupled chemical oscillators.....	69
Е.Д. Изотова, Н.И. Акберова Области взаимодействия ортокремниевой кислоты и силика-теина- α <i>T. Aurantium</i>	69
Л.И. Исмаилова, Р.М. Аббаслы, Н.А. Ахмедов Структурная организация молекулы GLY-PRO-ARG-PRO	70
В.А. Капцов, В.Н. Дейнего, Д.В. Козырицкий Селективная поведенческая реакция <i>Trichoplax</i> (Plasozoa) на RGB – световые стимулы	71
Б.Н. Клочков Моделирование динамики волнового транспорта в биосистемах.....	72
К.В. Костарев, Д.А. Брацун Фазовые переходы при коллективном поведении большой группы высших животных.....	73
А.С. Кузнецов, Р.Г. Ефремов Структурно-динамические особенности димеризации транс-мембранных доменов рецепторных тирозинкиназ: роль мембранного окружения.....	74
А.О. Луценко, Д.К. Шпигун, А.Э. Сидорова Методика оценки хиральности суперспиральных структур белков	75
G. Lima Navarro, J.A. Arzola Flores, E.Vidal Robles, A.A. Hernandez Santiago Multilayer perceptron neural network to predict the surface plasmon resonance of gold nanospheres using their morphological characteristics	76
О.М. Масленникова, М.Н. Шипко, М.А. Степович, В.В. Криштоп, А.Л. Сибирев Особенности изменений структурно-функциональной организации форменных элементов крови при моделировании оксидативного стресса.....	77
О.М. Масленникова, А.Л. Сибирев, В.В. Криштоп, М.Н. Шипко, М.А. Степович, О.С. Ленчер Исследование эффективности транспорта ионов K^+ по каналам ионных обменников в присутствии лекарственных средств – активаторов калиевых каналов.....	78
К.О. Меркулова, Д.Э. Постнов Влияние флуктуаций со стороны внешнего воздействия на рассинхронизацию между циркадным ритмом и циклом сон-бодрствование	79

А.А. Наумов, И.Л. Пластун, А.А. Захаров Возможности межмолекулярного взаимодействия полиэлектролитных капсул с митоксантроном.....	79
И.С. Панина, А.Х. Тальдаев, А.О. Чугунов, Р.Г. Ефремов Конформационные особенности лантибиотиков низинового типа в присутствии аналога мишени: исследование <i>in silico</i>	80
К.В. Потапенков, Ю.А. Кокшаров, Г.Б. Хомутов Магнитоэластическая оболочка во внешнем магнитном поле как модель нанокompозитной магнитной липосомы.....	81
А.Э. Сидорова Самоорганизация в эволюционирующих системах макро- и микроуровней	82
С.А. Судоргин Электротранспортные свойства однослойного германена.....	83
Р.П. Тренкеншу Вероятностная модель активности перехода к цитокинезу в процессе митоза микроводорослевых клеток.....	84
Р.П. Тренкеншу, А.В. Ширяев, С.Ю. Горбунова Моделирование пред-экспоненциальной фазы роста в культуре микроводорослей.....	85
Д.С. Финашкин, Л.М. Бабков Структура и колебательные спектры изомеров дигидроксисбензойной кислоты. Теория, эксперимент	87
Я.В. Фрицлер, А.Н. Шуваев Модель изменения депрессии синаптического возбуждения в ответ на блокировку основных путей внутриклеточной регуляции синаптической проводимости.....	88
А.А. Чекушкин, А.С. Лелеков, А.Л. Подгорная Скорость роста и КПД фотобиосинтеза культуры <i>Phaeodactylum tricoratum</i> в условиях естественного освещения	89
Р.Н. Червицов, Д.А. Тодоренко, Т.В. Дрозденко, С.С. Хрущев, Т.К. Антал, Т.Ю. Плюснина Использование классификатора «случайный лес» для определения токсического действия тяжёлых металлов на растения гороха <i>Pisum sativum</i> и фитопланктон.....	90
Ю.А. Чистякова, Т.Ю. Плюснина Модель регуляции углеводно-липидного обмена	91
Д.К. Шпигун, А.О. Луценко, А.Э. Сидорова Методика оценки хиральности спиральных структур белков	91

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

М.Д. Акинина, В.П. Демкин Оптимизации передаточной функции вестибулярного имплантата	93
Н.А. Аксенова, П.С. Тимашев, А.Б. Соловьева Особенности фотосенсибилизирующих свойств метиленового синего и бенгальского розового в присутствии амфифильных полимеров	94
В.Н. Антипова, А.С. Омелянчик, К.В. Соболев, К.А. Гриценко, В.Г. Колесникова, И. Хан, Е.Н. Козлова, Е.В. Левада, Д. Педдис, А.А. Амиров, В.В. Родионова Влияние магнитоэлектрических полимерных интерфейсов на жизнеспособность нейрональных стволовых клеток	95
А.А. Архипова, Е.Д. Каримова Паттерны функциональной коннективности головного мозга в норме и при височной эпилепсии по данным фМРТ покоя.....	96

В.Ю. Байрамуков, А.С. Букатин, С.Б. Ланда, В.С. Бурдаков, Т.А. Штам, Н.Д. Федерова, М.В. Филатов Биомеханические характеристики внеклеточных везикул плазмы крови, выявленные методом атомно-силовой микроскопии	97
Н.Е. Беликов, О.В. Демина, А.Ю. Лукин, Л.Е. Петровская, Д.А. Складнев, С.Д. Варфоломеев, А.А. Ходонов Исследование технологии селективного маркирования рекомбинатных белков-мишеней и разработка путей синтеза модифицированных квантовых точек CdTe в водных растворах	98
Н.В. Белослудцева, Т.А. Урюпина, Е.Ю. Таланов, К.Н. Белослудцев, М.Р. Степанов, М.А. Ананиян, Л.Л. Павлик, Г.Д. Миронова Структурные и функциональные нарушения митохондрий миокарда при гипертрофической кардиомиопатии у крыс и возможность их коррекции с помощью регуляторов окислительного стресса	99
А.Б. Белотелов, Е.И. Черкасова, А.В. Масленникова Эффекты различных режимов фото-биомодуляции в отношении культуры нормальных клеток, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения	100
Л.В. Бельская, Е.А. Сарф Половозрастные особенности полос поглощения липидов на ИК спектрах слюны	101
Ю.Г. Бирулина, Е.Е. Буйко, Р.Р. Шайбекова, Л.В. Смаглий, И.В. Петрова, С.В. Гусакова Влияние H ₂ S на Ca ²⁺ -зависимую калиевую проницаемость мембраны эритроцитов при метаболическом синдроме.....	102
А.В. Благова, Г.О. Степанов, А.Н. Осипов Флуоресцентное исследование конформационных изменений цитохрома С при взаимодействии с фосфатидной кислотой.....	103
Е.А. Богачева, М.В. Ажищева, А.А. Сыровец, А.О. Лантушенко Анализ противовоспалительных свойств зубного порошка при заболеваниях ротовой полости с помощью микроядерного теста.....	104
Л.Р. Богданова, Д.А. Файзуллин, О.Н. Макшакова, И.А. Седов Изменение структуры фибрилл в системах с сульфатированными полисахаридами.....	105
Л.А. Бокерия, Т.Т. Какучая, А.М. Куулар, Е.С. Максимович, В.А. Бадеев, К.П. Гайкович Возможности применения микроволновой ближнепольной томографии в биомедицинской диагностике	105
В.С. Бурдаков, А.В. Волницкий, Л.А. Гараева, Е.А. Куус, Д.В. Лебедев, Н.А. Верлов, А.Л. Коневега, Т.А. Штам Адресная терапия на фоне облучения протонами как новый подход к лечению опухолей ЦНС.....	106
А.Б. Бурлаков, С.А. Титов, Л.А. Зыкова Высокочастотная сонография сердечно сосудистой системы в раннем развитии низших позвоночных.....	107
Н.А. Верлов, С.Б. Ланда, В.Л. Эмануэль Олигомеры уромодулина в растворах различной ионной силы и рН.....	108
Д.А. Винник, А.Е. Печко, Н.А. Роденко, Т.И. Васильева, В.А. Глущенко Влияние импульсного магнитного поля на субстраты различных ферментативных реакций.....	109
В.В. Волков, Г.О. Степанов, А.Н. Осипов Изменение способности цитохрома С к восстановлению после взаимодействия с фосфатидной кислотой.....	110

Е.А. Гайдабура, М.Л. Золотавина, А.В. Братова Биохимические методы маркеров воспаления крови как альтернатива методов компьютерной томографии для определения степени поражения легочной ткани при новой коронавирусной инфекции.....	111
А.Б. Гапеев, Т.Г. Щербатюк, Г.Ю. Балакин, В.А. Синельникова, Г.К. Рысцов, М.Ю. Земскова Генотоксическое действие озона на клетки аденокарциномы молочной железы.....	112
Б.Г. Гарамян, А.А. Гриневич, А.А. Хадарцев, Н.К. Чемерис Неинвазивная оценка времени прохождения пульсовой волны у человека с использованием фазового и морфометрического методов.....	113
А.Е. Гордеева, В.И. Новоселов Применение пероксиредоксина 6 для перфузии изолированной почки крысы.....	114
П.В. Горелкин, А.С. Ерофеев, Ю.Е. Корчев Сканирующая ион-проводящая микроскопия для биофизических исследований.....	115
Д.И. Грачёв, К.Б. Шумаев, В.А. Медведева, А.С. Фефлер, О.В. Космачевская, Э.К. Рууге Взаимодействие различных нитрозильных комплексов гемоглобина с активными формами кислорода и азота.....	116
З.А. Григорьева, К.А. Гриценко, М.В. Ефремова, М.А. Абакумов, Ю.В. Невзорова, В.В. Родионова, Е.В. Левада Использование магнитных наночастиц состава Fe ₃ O ₄ -Au в диагностике болезни Крона.....	116
Л.Н. Гринкевич МикроРНК в синаптической пластичности и долговременной памяти.....	117
Ф.И. Далидчик, Л.И. Руссу, О.А. Лопатина, И.А. Суетина, М.В. Бакланова, С.А. Ковалевский, Е.М. Балашов, М.В. Мезенцева Активизация клеточной экспрессии цитокинов гетерополикислотами.....	118
З.Г. Дениева, О.В. Батищев Физико-химические механизмы формирования и рН-индуцированного разрушения белкового каркаса вируса гриппа А на липидных мембранах.....	119
А.Р. Дюкина, С.И. Заичкина, М.М. Поцелуева, Д.П. Ларюшкин, В.Н. Зателепин, Д.С. Баранов, В.А. Панчелюга Биологические реакции в клетках костного мозга, цельной крови и лимфоидных органов мышей, облученных в окрестности высоковольтного электрического разряда в водо-воздушной среде.....	120
А.Р. Дюкина, И.В. Тихонова, М.С. Северюхина, В.Г. Сафронова Особенности дыхательного взрыва в гранулоцитах костного мозга мышей, устойчивых к ожирению, при остром воспалении.....	121
А.А. Евтина, М.А. Булдаков, В.О. Нехорошев, Н.В. Ландль Влияние низкотемпературных плазменных струй на пролиферацию опухолевых клеток.....	122
А.С. Ерофеев, П.В. Горелкин, Ю.Е. Корчев 3D-картирование рН, кислорода и АФК с высоким пространственным разрешением на поверхности и внутри живых клеток.....	123
О.Ю. Жукова, В.И. Бабичева, И.С. Зубарева Влияние электрических полей на активность каталазы печени.....	123
В.А. Зайцев, М.О. Плешков, Д.Н. Старков, В.П. Демкин Сравнение точности методов электроокулографии (ЭОГ) и видеоокулографии (ВОГ) при проведении теста импульса головы.....	124

В.Н. Зарубин Аппарат хронофизиотерапии для лечения заболеваний путём устранения десинхроноза	125
Т.Е. Зорина, И.Е. Кравченко, Л.В. Баран, В.П. Зорин Структурные характеристики и стабильность липосомальных наноносителей для порфириновых фотосенсибилизаторов	126
О.С. Зуева, А.О. Макарова, А.Н. Туранов, Ю.Ф. Зуев Водно-этанольные растворы как среда для ассоциации биологических макромолекул	127
Л.А. Иванова, Ю.Е. Горшкова, В.С. Бурдаков, Н.А. Верлов, А.Е. Баранчиков, Г.П. Копица, А.А. Кульминская Исследование надмолекулярной и кристаллической структуры гидролизованной бактериальной целлюлозы как основа для биорезорбируемых перевязочных материалов	128
К.Д. Казаринов, И.Г. Полников, И.И. Власова, Е.В. Михальчик, А.А. Гусев, О.А. Баранова, В.А. Щелконогов, А.В. Чеканов Микроволновое излучение усиливает радикал-генерирующую способность активированных нейтрофилов в эксперименте <i>in vitro</i>	129
Е.Д. Каримова, Н.С. Катермин, С.Е. Буткимбаев Анализ сенсомоторного мю-ритма у пациентов с эпилепсией методом независимых компонент	130
Е.Б. Киселева, О.С. Стрельцова, В.В. Дуденкова, К.Э. Юнусова, В.В. Елагин Анализ состояния соединительнотканного матрикса уретры при уретральном болевом синдроме методом нелинейной микроскопии	131
Д.А. Киселева, Е.В. Сидорин Влияние шаперона Skp <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> на агрегацию иммуноглобулинов мыши и кролика при разных значениях рН	132
О.В. Космачевская, Э.И. Насыбуллина, К.Б. Шумаев, Н.Н. Новикова, А.Ф. Топунов Протекторное и редокс-модулирующее действие динитрозильных комплексов железа по отношению к реакционноспособным тиолам гемоглобина	133
С.П. Колюхова, Г.О. Степанов, А.Н. Осипов Пероксидазная активность цитохрома С в присутствии фосфатидной кислоты	134
Е.М. Кравченко, Е.С. Кучина, Е.А. Лаптева, И.Д. Одарюк Использование стабильных радикалов для изучения кинетики ферментативного окисления фенолов	135
Т.П. Кулагина, А.Б. Гапеев, А.В. Ариповский, Е.С. Жукова, Т.Г. Щербатюк Изменение жирнокислотного состава и свободнорадикальной активности в тканях крыс при опухолевом росте в условиях воздействия озона	136
С.Б. Ланда, Н.А. Верлов, М.В. Филатов, В.С. Бурдаков, В.Л. Эммануэль Внеклеточные везикулы как носители холестерина, не связанного с липопротеинами	137
А.О. Лантушенко, В.Е. Шаповалова, И.В. Дегтяр, А.В. Синченко, А.Б. Боровков Молекулярно-генетический анализ микроводоросли <i>Dunaliella salina</i> , штамм IBSS-2	138
Н.В. Леконцева, Ю.А. Буюклян, В.А. Балобанов, А.О. Михайлина, А.Д. Никулин Исследование РНК-шаперонных свойств белка ProQ из <i>Escherichia coli</i>	139
У.Г. Летуга Особенности роста бактерий <i>E. coli</i> в присутствии левофлоксацина и магния ²⁵ Mg	139
С.В. Лисак, О.В. Крюкова, С.В. Тарских, Г.В. Макарская Образование свободных радикалов в клетках асцитной карциномы Эрлиха под действием наночастиц ферригидрита	140

V.K. Lishko, T.P. Ugarova Structural instability of the upper surface of the fibrinogen multilayer contributes to its nonadhesive properties.....	141
М.Г. Маклецова, Г.Т. Рихирева, М.Ю. Вакуленко, К.В. Грякалов, Г.Р. Уразгильдеева влияние полиаминов на образование метгемоглобина в крови пациентов с болезнью Паркинсона в условиях окислительного стресса при моделировании <i>in vitro</i>	141
А.А. Максютлова, З.Д. Баймурзина, Ю.С. Зимин Озонированное окисление нуклеиновых оснований в водных растворах.....	142
А.В. Мельницкая, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая, В.И. Бадюлина Ингибитор циклооксигеназы диклофенак подавляет транспорт Na^+ в эпителии кожи лягушки	143
Л.С. Миленина, З.И. Крутецкая, В.Г. Антонов, Н.И. Крутецкая, В.И. Бадюлина, А.О. Симонян Липоксигеназы участвуют в регуляции Ca^{2+} -ответов, индуцируемых трифлуоперазином в перитонеальных макрофагах	144
Н.П., Милютина, Р.В. Сидоров, Н.С. Долтмурзиева, А.А. Ананян, В.В. Внуков Оценка состояния пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование.....	145
Н.В. Молочков, Г.В. Микулинская, Д.А. Прохоров, А.Е. Егоров Роль ионов кальция и цинка в формировании каталитически активной формы металлофермента – L-аланоил-D-глутаматпептидазы бактериофага T5 (EndoT5).....	146
Г.И. Морозова, Г.В. Корнилаева, О.М. Гринкевич, К.З. Аскарова, О.А. Лопатина, Е.Л. Фирсова Трансмембранные потенциалы и энергетическая активность онкоклеток культуры HeLa в процессе её размораживания и при инфицировании аденовирусом	147
А.В. Моторжина, С.Е. Пшеничников, С. Ёваносич, М. Вукоманович, В.В. Родионова, Е.В. Левада Наноконпозиты кобальт-феррита/золота-аргинина как потенциальный терапевтический агент для лечения T-лимфобластного лейкоза.....	148
М.А. Наквасина, Т.И. Старикова, В.Г. Артюхов Структурно-функциональные модификации лимфоцитов человека в динамике апоптоза, индуцированного воздействием пероксида водорода	149
Э.И. Насыбуллина, О.В. Космачевская, К.Б. Шумаев, А.Ф. Топунов Защитное действие на эритроциты и гемоглобин метаболитов оксида азота при окислении гипохлоридом	150
А.П. Нечипоренко, О.С. Везо, У.Ю. Нечипоренко, Л.В. Плотникова, В.Е. Ситникова, П.П. Плотников Влияние природных сахаридов на Фурье-спектр плазмы крови человека	151
Ю.Д. Нечипуренко, Д.А. Семёнов, И.А. Лавриненко, Д.А. Лагуткин, Е.А. Генералов, А.Ю. Зайцева, О.В. Матвеева, Е.Е. Егоров Ацидоз и эффект Вериге-Бора при развитии COVID-19	152
Ю.Д. Нечипуренко, Р.С. Гарсия Рейес, Х.Л. Эрнандес Касерес Гипотеза контаминации мембран для эпилепсии и кетогенная диета	152
Т.И. Николаева, К.С. Лауринавичюс, М.В. Молчанов, С.М. Кузнецова, В.И. Емельяненко, А.А. Смирнов, П.В. Шеховцов Получение нутрицевтиков на основе комплекса низкомолекулярных пептидов коллагена и компонентов гликозаминогликанов для профилактики и лечения болезней суставов	153
В.И. Новоселов Роль пероксиредоксинов в нейтрализации окислительного стресса при ишемически-реперфузионном поражении внутренних органов.....	154

С.С. Обернихин, Н.В. Яглова, В.В. Яглов, Д.А. Цомартова Роль митохондриального аппарата хромаффиноцитов надпочечников в нарушениях секреции адреналина, обусловленных эндокринным дисраптором ДДТ.....	155
А.А. Олешкевич, И.П. Щеглаков Корреляционно-регрессионный анализ биохимических показателей крови собак.....	155
И.В. Перетокина (Ивлиева), А.А. Мещерякова, Л.М. Бабков, В.В. Сорокин ИК спектры и структура хроменопиридинкарбонитрильных систем.....	156
А.Г. Погорелов, Л.Г. Ипатова, А.А. Гулин, В.Н. Погорелова Спектрометрия растительных полисахаридов в растворе электрохимически активированной воды.....	157
К.В. Потапенков, А.В. Сыбачин, А.А. Ярославов, И.В. Таранов, В.А. Черепенин, В.А. Вдовин, Ю.В. Гуляев, А.М. Салецкий, Г.Б. Хомутов Коллоидные наносистемы для управляемой доставки лекарств, восприимчивые к внешним физическим воздействиям	157
А.А. Прокопов, А.В. Митронин К вопросу об эрозии зубов по данным рентгенофлуоресцентного анализа (РФА)	158
В.А. Пурцхванидзе, М.Ю. Гурьянова, Л.В. Сардарян Оптимизация физико-химических параметров фотодинамической терапии предраковых и онкологических заболеваний	160
С.Е. Пшеничников, А.С. Омелянчик, В.В. Родионова, Е.В. Левада Селективная индукция оксидативного стресса наночастицами оксида железа на примере клеточной линии Jurkat и МНК.....	160
Н.О. Ронжин, Е.Д. Посохина, Е.В. Михлина, М.М. Симунин, И.И. Рыжков, В.С. Бондарь Каталитический эффект композита из нановолокон оксида алюминия и наноалмазов при функционализации ионами Fe^{2+} Cu^{2+}	162
Т.В. Руденко, В.П. Демкин, С.В. Мельничук, В.В. Удут Восстановление функциональных свойств эритроцитов	163
А.Ю. Рыбкин, Н.С. Горячев, А.В. Козлов, А.Ю. Белик, Е.А. Костина, А.И. Котельников Структуры фуллерен[60]-(Цианиновый краситель) для фототераностики	164
S. Ramos Esparaza, J.A. Arzola Flores, E. Vidal Robles, A.A. Hernandez Santiago Machine learning for predicting the surface plasmon resonance of silver nanospheres	164
M.A. Rodriguez-Meza, M.A. Morales, A.M. Cervantes-Tavera, A.A. Hernandez-Santiago Glioblastoma growth computational simulation: a minimal model of multiscale angiogenesis	165
S.P. Rozhkov A Possible role of salt-induced intermediates in the liquid-liquid phase transitions of globular protein dispersions	166
Е.В. Семенова, Е.В. Малышко, В.А. Твердислов Взаимосвязь хиральности лекарственных препаратов и их биоактивности	167
М.А. Сизов, М.Г. Рябков, Е.Л. Бедерина, А.А. Моисеев, Н.Д. Гладкова, Е.Б. Киселева Применение мультимодальной оптической когерентной томографии для изучения состояния кишечной стенки при отсроченном наложении анастомоза	168
Л.В. Смаглий, В.С. Гусакова, Ю.Г. Бирулина, Е.А. Голованов, С.В. Гусакова Пуринергическая регуляция сократительной активности гладкомышечных клеток легочной артерии в неизоосмотической среде	169

Л.О. Соколова, О.В. Путинцева, В.Г. Артюхов Влияние коротковолнового УФ-света (254 нм) на цитоархитектонику и спектральные характеристики эритроцитов крови доноров.....	169
Т.В. Сологуб, О.А. Мастерова, Ю.Л. Ермолаев, В.А. Овсянников Комплексная терапия вирусных заболеваний	170
В.А. Старожук, Д.А. Киселева, Е.В. Сидорин Влияние шаперона Skp <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> на процесс агрегации сывороточных альбуминов при разных значениях pH.....	171
А.Т. Суяндукова, С.В. Мельничук, В.П. Демкин, В.В. Удут Адаптивная физико-математическая модель коронарного кровотока	172
А.Б. Соловьва, Н.А. Аксенова, С.Ф. Тимашев Комплексы фотосенсибилизаторов с амфифильными полимерами для антимикробной фотодинамической терапии	173
M. Lalkovicova, Yu.S. Severyukhin, I.A. Kolesnikova, D.M. Utina, K.N. Lyakhova, V.N. Gaevsky Use of the drug piracetam in adult rats, behavioral and morphological changes in the brain after fractionated gamma irradiation	174
T. A.M. Cervantes, F.M. Gonzalez, R.A. Moreno, C.J. Italo, M.A. Hernandez-Apam, G.R. Lima Significance test on a data matrix of tannins extracted from tenuiflora mimosa (Tepezcohuite) encapsulated in TiO ₂ nanoreservoirs	174
А.В. Тамашевский, Ю.М. Гармаза Влияние ионов цинка на злокачественную популяцию клеток у пациентов с хроническим в-лимфоцитарным лейкозом: <i>in vitro</i> исследование	175
А.В. Тамашевский, Ю.М. Гармаза, В.В. Пасюков, Е.И. Слобожанина Редокс-баланс в качестве критерия для персонифицированного учета ответа клеток пациентов с острым лимфобластным лейкозом на терапию	176
Д.И. Телегина, С.В. Васильева Сероводород выступает медиатором NO-сигнальной активности, тем самым стимулируя дисперсию биопленок	177
Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова Связывание ионов железа (II) дигидрокверцетином ингибирует реакцию Фентона.....	178
Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова Влияние водных экстрактов йерба мате (<i>Ilex paraguariensis</i>) на процесс липидной перекисидации липосомальных мембран.....	179
В.Ю. Титов, А.Н. Осипов, И.И. Кочиш Предполагаемый механизм регуляции физиологических эффектов оксида азота.....	180
И.В. Тихонова, А.А. Гриневич, А.В. Танканаг Фазовые взаимосвязи между вариабельностью сердечного ритма и колебаниями периферической микрогемодинамики верхних и нижних конечностей у человека	181
И.В. Тихонова, И.Е. Гусева, В.Г. Сафронова Модифицирующее действие повышенной температуры на кинетику дыхательного ответа фагоцитов у больных сахарным диабетом 2 типа	182
А.Ф. Топунов, О.В. Космачевская, Н.Н. Новикова, С.Н. Якунин Изучение связывания металлов гемоглобином методом рентгеновской спектроскопии поглощения.....	183
А.В. Тюменцева, Р.Н. Ярославцев, Ю.В. Герасимова, С.В. Столяр Магнитные наночастицы оксида железа, синтезированные в присутствии экстракта коры дуба: особенности структуры и свойств.....	184

Т.М. Фаткуллин, А.Д. Бениаминов, Д.Н. Калюжный Серебряные нанокластеры на квадруплексных последовательностях ДНК	185
Н.Д. Федорова, Д.А. Сумбатьян, Е.Ю. Варфоломеева Влияние белков острой фазы воспаления на реакцию респираторного взрыва нейтрофилов периферической крови	186
Н.Д. Федорова, Д.А. Сумбатьян, М.А. Стукова, А.В. Иванов, Е.В. Семенова, М.В. Филатов, Е.Ю. Варфоломеева Вирусные инфекции влияют на функциональную активность нейтрофилов периферической крови	187
М.В. Федорова, В.И. Вознесенский, А.А. Харченко, Е.В. Проскурнина Активность микросомальных редуктаз у пациенток с аденокарциномой эндометрия.....	188
Е.М. Филиппова, Ю.В. Несвижский, С.А. Титов, А.И. Глухов Исследование физико-химических свойств клеточной стенки <i>Candida Albicans</i> методом атомно-силовой микроскопии.....	189
М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, Е.В. Малюшкова, И.И. Хлудеев, А.П. Луговский, И.В. Семак Анализ свойств комплексов полиметиновых красителей с белками сыворотки крови методом гель-электрофореза	191
М.Г. Холявка, В.А. Королева, С.С. Ольшанникова, Е.В. Захарова, М.С. Кондратьев, В.Г. Артюхов Новые препараты цистеиновых протеаз, иммобилизованных на хитозане. Структура, стабильность, активность, перспективы применения	192
Е.А. Храмцова, О.Р. Куликова, Д.И. Ушмаров, К.Г. Антипова, К.И. Луканина, С.Е. Гуменюк, В.М. Левин, Т.Е. Григорьев Оценка скорости деградации каркасных губок на основе хитозана <i>in situ</i> по данным акустической микроскопии.....	193
А.О. Цибулина, В.П. Демкин, В.В. Удут Роль начальных фаз гемокоагуляции в процессе фибриногенеза	194
Г.В. Чащина, Д.Н. Калюжный Остановки термофильной ДНК-полимеразы вызываются стабилизацией G4-структур ДНК-связывающими лигандами.....	195
И.А. Черенков, М.М. Игнатьева, Л.А. Майорова, В.Г. Сергеев Диффузия катионного красителя в гидрогелях различного состава: биоэлектрохимические аспекты.....	196
И.С. Черепанов Образование продуктов перегруппировки амадори в процессах конденсации аденина с <i>D</i> -маннозой и 6-дезоксид- <i>L</i> -маннозой.....	197
Л.Н. Шишкина, А.Н. Смирнова, Л.И. Мазалецкая, А.С. Дубовик, В.О. Швыдкий Взаимосвязь между физико-химическими свойствами и составом в липидах алоэ древовидного.....	198
К.Б. Шумаев, О.В. Космачевская, А.Ф. Топунов, Э.И. Насыбуллина, А.К. Мартусевич, Э.К. Рууге Влияние различных доноров оксида азота на ферментативное гликирование биомолекул.....	199
Н.В. Яглова, С.С. Обернихин, Е.П. Тимохина, В.В. Яглов Первичные и реактивные изменения гормоногенеза в щитовидной железе на сдвиги в балансе дейтерия и протия в организме	200
Р.Н. Ярославцев, А.В. Тюменцева, Ю.В. Герасимова, С.В. Столяр Наночастицы оксида железа, покрытые TEOS и APTES, для магнитной сепарации клеток	201

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

М.Т. Аббасова Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения дециметрового диапазона на активность церулоплазмينا в сыворотке крови у крыс	202
Л.М. Апашева, М.И. Будник, А.В. Лобанов, Е.Н. Овчаренко, М.В. Розанцев, В.В. Турбин, А.И. Сергеев, Д.С. Стребков Функциональное состояние внутриклеточной воды огурца при стрессе замкнутого объема.....	203
С.И. Барцев, А.Г. Дегерменджи, Н.Н. Дегерменджи, М.Ю. Салтыков, А.Б. Сарангова Экологическая биофизика – возможные горизонты развития	204
С.В. Беспалова, С.В. Чуфицкий, С.М. Романчук Биомониторинг состояния поверхностных вод русла реки Кальмиус на территории города Донецка с применением методов флуориметрии.....	205
В.А. Булков, Е.В. Савченко, А.В. Кузнецов <i>Placozoa</i> как лакмусовая бумажка закисления океанов	206
Е.А. Григорьева, Н.Н. Колесникова, А.А. Попов, А.А. Ольхов Биоразлагаемые газонаполненные композиционные материалы: структура и свойства.....	207
А.С. Гулин, Р.П. Тренкеншу Разработка автономной экспедиционной установки для исследования микроводорослей в естественных условиях	208
Н.Н. Гурова, И.И. Дигурова Анализ морфологических показателей листовых пластин осины при действии техногенного фактора.....	209
Г.А. Даллакян Влияние фуллерена на рост и развитие водных организмов	210
А.Г. Дегерменджи, Н.Н. Дегерменджи Новые направления в биофизике водных экосистем	211
Н.Н. Дегерменджи Математическое моделирование динамики бактериопланктона на органических почвенных экстрактах берегов Красноярского водохранилища.....	212
Ю.С. Жданкина, И.В. Огнева Содержание Р-ФАК в сперматозоидах мыши при воспроизведении микро- и гипергравитации.....	213
Ж.М. Ибрагимова, М.М. Мухтаров, С.Д. Байрамова Реакция сульфгидрильной редуцирующей среды различных субструктур хрусталика на хроническое облучение ЭМИ	213
Э.А. Иванова Супермолекулярная реорганизация протеомных ансамблей супрамолекулярных структур хроматина растений в стрессовых условиях окружающей среды	214
В.А. Кальпа, А.О. Лантушенко Исследование влияния продуктов разложения пластика на механические свойства мембран гемоцитов <i>Mytilus galloprovincialis</i> методом малоуглового светорассеяния.....	215
А.Т. Кулиева Влияние электромагнитного излучения на концентрацию общего белка и гемоглобина крови у крысят облученных в пренатальном периоде (<i>Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева НАН Азербайджана</i>)	216
А.А. Мамонтов, И.С. Хавронюк, К.А. Рыбакова, А.В. Кузнецов Поведение трихоплакса в зависимости от действия света на опсины в соответствии с глубиной обитания животного: анализ и модельные опыты.....	217

А.В. Немчинова Автоколебательные механизмы поддержания популяций таежных лесообразователей на побережье Онежского полуострова.....	218
И.В. Огнева Эволюционные аспекты регуляции двигательной активности сперматозоидов при воспроизведении невесомости.....	219
Л.В. Повхова, Г.Н. Владимиров, Е.Н. Николаев, Т.А. Рожмина, Е.Н. Пушкова, Р.О. Новаковский, Е.М. Дворянинова, А.А. Дмитриев, Н.В. Мельникова Методика определения жирнокислотного состава льняного масла методом масс-спектрометрии.....	220
А.А. Попова, Р.А. Беданок Параметры кривой коагуляции при электрокоагуляционной очистке природных вод.....	221
А.А. Попова, Р.А. Беданок Коагуляционная очистка природных поверхностных вод в присутствии поляризации.....	222
Е.Н. Скуратовская, А.Д. Сербин, Д.М. Полевой Влияние полихлорированных бифенилов на биохимические параметры гепатопанкреаса мидии <i>Mytilus galloprovincialis</i>	223
А.А. Солдатов Кислородные режимы скелетных мышц кефали-сингиля в течение годового цикла	224
Д.С. Стребков, М.И. Будник, Л.М. Апашева, А.В. Лобанов, Е.Н. Овчаренко, М.В. Розанцев, В.В. Турбин Влияние экологически чистых водных растворов пероксида водорода различных низких концентраций на проращивание семян в интеллектуальной машине	225
И.С. Хавронюк, Д.П. Воронин, А.В. Кузнецов Поведенческий ритм <i>Trichoplax</i> sp. H2: реакции на световое излучение различной длины волны	226
АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ	228

СЕКЦИЯ 1. ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОГО ПЕПТИДА IRW И ЕГО ИЗОМЕРА LRW, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ПИЩЕВЫХ БЕЛКОВ Conformational Particularities of Antihypertensive Peptide IRW and its Isomer LRW, Derived from Food Proteins

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

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

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) играет важную роль в системах контроля артериального давления (ренин-ангиотензиновая система), поскольку он превращает ангиотензин I в ангиотензин II (Ang II), что приводит к развитию гипертонии. Следовательно, очень важно изучить ингибирование АПФ для предотвращения и лечения гипертонии. АПФ является важным фактором регуляции артериального давления. Ингибиторы АПФ широко назначают при сердечно-сосудистых заболеваниях, включая высокое кровяное давление, сердечную недостаточность и почечную недостаточность. Пептиды, ингибирующие АПФ, которые более безопасны, чем синтетические ингибиторы АПФ, оказались полезными в качестве гипотензивных средств. Структурная биоинформатика показывает, что активность пептидов, ингибирующих АПФ, связана как с их молекулярными массами, так и с аминокислотными последовательностями. Некоторые исследования показали, что короткоцепочечные полипептиды с низкой молекулярной массой проявляют высокую ингибирующую активность в отношении АТФ. Окислительный стресс сосудов, воспалительная реакция и пролиферация являются решающими медиаторами сосудистой дисфункции, которые вносят вклад в патологию гипертонии. Трипептид, LRW (Leu-Arg-Trp), был охарактеризован из белка гороха, и его ранее изученный изомер IRW (Ile-Arg-Trp), как сообщалось, проявлял антигипертензивную активность за счет активации ангиотензин-превращающего фермента II. Как было показано, трипептид LRW оказывает влияние на сосудистый стресс в гладкомышечных клетках сосудов (VSMC) в условиях клеточного стресса, вызванного ангиотензином II [1]. Введение LRW может снизить вызванную Ang II продукцию супероксида, воспаление и пролиферацию в гладкомышечных клетках сосудов (VSMC). Вышеупомянутые благоприятные эффекты, по-видимому, включают активацию оси ACE2-Ang- (1-7) -MasR и модуляцию пути ядерного фактора-κB. Эти данные указывают на перспективную роль LRW в качестве функционального пищевого ингредиента или нутрицевтика в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, особенно гипертонии и сосудистых повреждений. Для выяснения механизма функционального действия пептидной молекулы необходимо знание его пространственного строения и конформационных свойств. В настоящей работе методами молекулярной механики исследовано пространственное строение и конформационное поведение антигипертензивного трипептида IRW и его изомера LRW, выделенных из пищевых белков [2]. В результате расчетов было показано, что в слабополярной среде пептиды предпочтительно формируют похожие стабильные полностью свернутые структуры. Было показано, что предпочтительная конформация этих пептидов стабилизируется эффективными дисперсионными взаимодействиями с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы C-терминальной части и гуанидиновой группы боковой цепи аргинина. В результате сравнительного исследования двух структурно гомологичных трипептидов IRW и LRW, были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях молекул. На основе полученных параметров были составлены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформаций трипептидов. Данное исследование позволило сопоставить все стабильные конформационные состояния двух трипептидных пептидов, что дает возможность выделить структурные критерии, возможно необходимые для создания ингибирующих свойств лекарственных препаратов для клинического использования.

1. Liao W., Fan H., Wu J.J. Egg White-Derived Antihypertensive Peptide IRW (Ile-Arg-Trp) Inhibits Angiotensin II-Stimulated Migration of Vascular Smooth Muscle Cells via Angiotensin Type I Receptor // *J. Agric. Food Chem.*, 2018, vol. 66 (20), pp. 5133-5138.

2. Xiao Wang, Khushwant S. Bhullar, Hongbing Fan et al. Regulatory Effects of a Pea-Derived Peptide Leu-Arg-Trp (LRW) on Dysfunction of Rat Aortic Vascular Smooth Muscle Cells against Angiotensin II Stimulation // *J. Agric. Food Chem.*, 2020, vol. 68 (13), pp. 3947-3953.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЫ ГИЛАМБАТИНА И ЕГО ФРАГМЕНТА (5-12)**Comparative Conformational Analysis of Molecule Hylambatin and its Fragment (5-12)****Агаева Г.А., Сафарли Г.Р., Годжаев Н.М.**Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, *gulshen@mail.ru*

Тахикининовый пептид гиламбатин был выделен и химически охарактеризован из метанольных экстрактов кожи *Hylambates maculatus*, африканской лягушки-ракофориды. Гиламбатин состоит из двенадцати аминокислотных остатков в последовательности - DPPDPNRFYGMМамид. Было показано, что вводимый внутривенно гиламбатин значительно повышает уровень глюкозы и инсулина в плазме крови [1]. Кроме того, он обладает отличительной структурной характеристикой, впервые наблюдаемой в семействе тахикининовых пептидов, наличием последовательности Met-Met-NH₂ в С-концевом дипептиде. Он структурно отличается от всех других известных тахикининов, главным образом, наличием остатка метионина, заменяющего обычный остаток лейцина в положении 2 от С-конца. [1]. Гиламбатин и его 12 фрагментов были протестированы на препарате подвздошной кишки морских свинок на сократительную активность [2]. Все фрагменты, кроме трех, обладали сократительной активностью. При параллельном биоанализе ряда тестовых объектов *in vitro* и *in vivo* гиламбатин и другой тахикининовый пептид физаламин были почти неотличимы друг от друга с небольшими умеренными количественными различиями. С-концевой фрагмент такой же длины, как октапептидная последовательность (5-12), был, по крайней мере, таким же активным, как и исходная молекула. Гептапептидный фрагмент (Hyl6-12) и гексапептидный фрагмент (Hyl7-12) были менее активными, а С-концевой пентапептидный фрагмент (Hyl8-12) и N-концевой гексапептидный фрагмент (Hyl1-6) были гораздо менее активными. N-концевой пентапептидный фрагмент (Hyl1-5) и N-концевой фрагмент, из которого были удалены N-концевые остатки Asp или Asp-Pro (Hyl2-6, Hyl3-6), были неактивными при используемых дозах. Определение конформационных возможностей целой молекулы и его биологически активного фрагмента позволит вести более целенаправленный поиск эффективных и избирательно действующих аналогов.

В данной работе было проведено исследование конформационных свойств молекулы гиламбатина и его фрагмента (5-12), методом молекулярной механики. В результате минимизации энергии составленных структурных вариантов были найдены низкоэнергетические конформации С-концевого октапептида (5-12) гиламбатина. Энергетически наиболее предпочтительными оказались α -спиральные конформации октапептида. Было показано, что низкоэнергетические конформации октапептида, в основном, формируют α -спираль на С-конце молекулы. Полученные конформации стабилизируются в основном энергией дисперсионных взаимодействий, т.е. в конечном счете, плотностью упаковки. Расчет показал, что самые низкоэнергетические конформации октапептида отличаются друг от друга относительной подвижностью N-концевого трипептидного участка фрагмента. Сопоставление низкоэнергетических конформаций С-концевых пентапептида, октапептида и целой молекулы гиламбатина обнаруживает некоторую преемственность энергетически предпочтительных структур. Во всех рассчитанных пептидах предпочтение отдается структурам, ведущим к удлинению α -спирали. Конформационный анализ последовательно наращиваемых С-концевых фрагментов молекулы гиламбатина выявил значительную преемственность результатов по мере увеличения длины рассматриваемой пептидной цепи. Действительно, начиная от С-концевого пентапептида и кончая додекапептидамидом, от фрагмента к фрагменту энергетически предпочтительными оказывались α -спиральные конформации. Конформационный анализ каждого из рассматриваемых С-концевых фрагментов выявил ограниченный набор наиболее вероятных конформаций и достаточно четко определил стабилизирующие эти структуры силы. В рассчитанных стабильных конформационных состояниях были уточнены и энергетически оценены эффективные взаимодействия боковых цепей остатков и водородные связи. Данное теоретическое исследование показало также степень конформационной подвижности молекулы. На основе рассчитанных значений двугранных углов были построены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформационных состояний додекапептида гиламбатина.

1. Güllner H.G., Harris V., Yajima H., Unger R.H. Hylambatin, a structurally unique tachykinin: effects on insulin and glucagon secretion // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1984, vol. 272 (2), pp. 304-309.

2. Inoue A., Fukuyasu T., Nakata Y. et al. Structure-activity relationship of hylambatin and its fragments as studied in the guinea-pig ileum // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1988, vol. 40, iss. 1, pp. 72-73.

СУСПЕНЗИЯ ГРАФЕНА В КАЧЕСТВЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ Graphene Suspension as a Plant Growth Regulator

Апашева Л.М.¹, Дмитриев А.С.³, Лобанов А.В.¹, Михайлова И.А.³, Рубцова Н.А.¹, Савранский В.В.²

¹ ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, *apasheva@rambler.ru*

² ФИЦ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва, РФ

³ Национальный исследовательский университет «МЭИ», г. Москва, РФ

В современных условиях резко меняющегося климата, перепадов температур, дефицита пресной воды, внезапных затоплений актуален поиск новых регуляторов роста растений с определенным механизмом действия.

В опытах использовали нанопластины графена, полученные суперкавитационным способом. Получение нанопластин графена производили в кавитационной камере путем расщепления графитовых миллиметровых частиц вдоль кристаллографических плоскостей за счет эффектов сдвиговых напряжений в условиях суперкавитационной деионизированной воды с последующей ультразвуковым воздействием на графеновые пластины для дополнительного уменьшения числа атомных слоев. Проведенная электронная микроскопия показала широкий спектр размеров наночастиц графена в пределах от единиц нанометров до десятков микрометров. Элементный состав не обнаружил наличия в пределах одного процента посторонних элементов, кроме углерода. Спектры комбинационного рассеяния света свидетельствовали о наличии нанопластин толщиной от 1 до 5 атомных слоев углерода.

В наших работах использована суспензия нанопластин графена в деионизированной воде, которую фильтровали стальной сеткой с ячейками 2,5 мкм. Процентное содержание нанопластин в суспензии составило 0,02%.

Для определения рострегулирующей активности суспензии графена (далее СГ) отобраны семена огурца сорт Конкурент и кукурузы сорт Песня. Семена этих растений отличаются разным типом прорастания: у огурца - с выносом семядоли на поверхность грунта, у кукурузы - подземный тип прорастания. Для более четкого выявления рострегулирующей активности СГ выбраны семена пониженной всхожести в результате длительного хранения (контрольная всхожесть для семян огурца - 30%, для семян кукурузы - 20%). Семена проращивали в термостате при температуре +20 С на увлажненных фильтрах. В контроле фильтры увлажняли водой, в опыте О₁ использовали исходную СГ, в О₁₀ разведение СГ в 10 раз, в О₁₀₀ разведение СГ в 100 раз. В определенное время вели учет проросших семян. Наибольший эффект стимуляции прорастания отмечен при использовании исходной СГ без разведения. Количество проросших семян огурца и кукурузы превышало контрольные значения в О₁ для кукурузы 40%, для огурца 30%. При разведении СГ в 10 раз отмечено превышение контрольных значений на 25 % и 20 соответственно. В О₁₀₀ отличия от контроля не обнаружено.

Таким образом, суспензия графена, полученная описанным способом, может быть отнесена к регуляторам роста растений. Показана ее эффективность в качестве стимулятора прорастания семян с пониженной всхожестью, что может быть использовано в практике растениеводства.

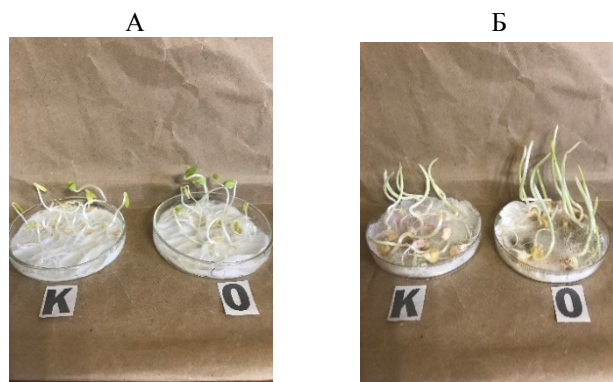


Рисунок 1. Проростки кукурузы (А) и огурца (Б), подрощенные в контроле на воде, в опыте – на суспензии графена

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ Mechanical Properties of Protein Macromolecules

Багрова О.Е., Малышко Е.В., Твердислов В.А.

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

Фолдинг белков представляет собой сложный процесс, направление которого определяется законами природы. Приобретённая правильная структура синтезирующейся аминокислотной последовательности позволяет белку в дальнейшем исправно выполнять свою функцию в биологической системе [1]. Важной особенностью живых организмов является так называемая хиральная чистота, наблюдаемая на каждом уровне иерархии [2]. Однако до сих пор нет однозначного ответа на вопрос о причинах существования таких предпочтений в знаке хиральности.

Данное исследование направлено на выявление закономерностей в формировании хиральных структур в биологических системах. В рамках данной работы был проведён предварительный анализ механических свойств модельных конструкций различной хиральности. В качестве модельного объекта была выбрана суперспираль типа coiled coil, представляющая собой скрученные в суперспираль α -спирали.

Coiled coil уже описывалась теорией упругих материалов для анализа её структуры. Однако ранее производились расчеты для coiled coil, составленной только из правых α -спиралей [3]. В данной работе были исследованы три типа модельных coiled coil из двух α -спиралей: coiled coil построена только из правых α -спиралей; только из левых; из одной правой и одной левой α -спирали. Анализировалась удельная энергия с учётом энергии деформации α -спиралей при образовании суперспирали и удельной энергии гидрофобного взаимодействия. Поведение выбранных систем рассматривалось при отсутствии и наличии внешнего крутящего момента.

В случае невозмущённой системы обнаружено, что минимум описанной выше энергии достигается при определённом знаке хиральности суперспирали coiled coil: в случае левых α -спиралей минимальной энергией обладает правая суперспираль; в случае правых α -спиралей – левая; смешанная система не образует суперспирали. В случае приложения внешнего момента: энергия смешанной системы понижается; при внешнем моменте, совпадающем со знаком исходной суперспирали, энергия системы понижается, что свидетельствует о большей стабильности; при моменте противоположном по знаку к исходной суперспирали – энергия системы повышается, что говорит о менее стабильной системе по отношению к невозмущённой.

Таким образом анализ механических свойств модельных хиральных конструкций свидетельствует о том, что существуют предпочтения в знаке хиральности при структурообразовании. Белки часто выступают в роли молекулярных машин, то есть являются небольшими преобразователями энергии. Элементами конструкций этих молекулярных машин являются всё те же спирали. В рамках такого рассмотрения coiled coil может выступать в роли вентильного элемента, поскольку при разных направлениях момента внешней силы система ведёт себя по-разному.

1. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка: Курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами. М.: КДУ, 2012. 524 с.

2. Твердислов В.А., Малышко Е.В., Ильченко С.А. и др. Периодическая система хиральных структур в молекулярной биологии // Биофизика, 2017, № 62 (3), с. 421-434.

3. Neukirch S., Goriely A., Hausrath A.C. Chirality of coiled coils: elasticity matters // Phys. Rev. Lett., 2008, № 100 (3), 038105.

КОДИРОВАНИЕ ЦВЕТА ПАТТЕРНОМ ИМПУЛЬСОВ Color Coding by Spike Pattern

Бастаков В.А., Гнубкин В.Ф., Максимов П.В., Орлов О.Ю.

Институт проблем передачи информации РАН, г. Москва, РФ, *graf@iitp.ru*

Определение цветового зрения как «способность различать цвета» исторически связано с успехами колориметрии: пионеры биофизики зрения Гельмгольц и Грасман выявили законы сложения цветов задолго до появления знаний об их биофизической основе – постоянстве спектральной чувствительности зрительных пигментов. Однако при этом изначально исключаются все суждения о цвете как предмете восприятия: ничего кроме различимости либо равенства цветов в опыте не фигурирует. Но одно различие цветов даёт не более чем контурную картину: для полноценного восприятия цветов (их узнавания, ранжирования и обобщения) нужны сенсорно-доступные средства «раскраски» картины. Биофизическим коррелятом «очевидных» различий цвета могут быть сигналы типа описанных в зрительной системе лягушки (Либерман, 1957; Maximov et al., 1985).

С этой целью, на зрительной системе лягушки было изучено многообразие нервных залпов в ответ на разные цветные стимулы, которыми служили цветовые «скачки»: смены стандартного фонового цвета на тот или иной

тестовый (всегда прибавку!). Стимулы предъявляли на дисплее мониторов LG Flatron или Samsung 700. Спектральные свойства мониторов и приемников сетчатки лягушки позволяют описать стимул (смену триады RGB монитора) в терминах возбуждения приёмников S, M, L. Ответы единичных цветокодирующих ON-элементов регистрировали платинированными микроэлектродами, касающимися нейропиля Беллончи (в промежуточном мозге) обездвиженной лягушки.

Воспроизводимые из опыта в опыт результаты вкратце таковы. 1. Всякое монотонное изменение стимула (цветового скачка) ведёт к монотонному изменению рисунка залпа спайков ON-элемента. 2. Паттерн (рисунок) залпа регулярно зависит как от интенсивности скачка (в единицах RGB), так и от цвета (смены соотношений возбуждения приемников S, M, L): увеличение доли коротковолнового приемника (S) вызывает продолжительный ритмический разряд; увеличение доли длинноволнового (L) вызывает краткий залп. 3. Оппонентные взаимоотношения между приёмниками S и L, кроме прочего, выражены в «обратной» зависимости паттернов при «обратных скачках» цвета (от стимула к фону): ответ на выключение синей добавки похож краткостью на ответ на добавку красной, и наоборот, выключение красной добавки вызывает ритмический ответ.

В целом, эти результаты позволяют говорить как о кодировании цвета, так и *метрике* на многообразии ответов цветокодирующих ON-элементов зрительной системы лягушки.

РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ОРГАНИЗАЦИИ РИТМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СИЛЬНО РАЗБАВЛЕННЫХ ВОДНЫХ СИСТЕМАХ

The Role of Reactive Oxygen Species in the Organization of Rhythmic Processes in Highly Dilute Aqueous Systems

Беловолова Л.В., Беловолов М.М., Глушков М.В.

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, г. Москва, РФ, est123321@mail.ru

Во всех разбавленных водных системах можно обнаружить высокоамплитудные скачки рэлеевского светорассеяния, связанные с перестройками водной среды под действием активных форм кислорода (АФК), всегда в малых количествах присутствующих в водных средах [1]. Различного рода примеси и лабораторные процедуры (встряхивание, переливание, облучение и др.) могут сильно изменить характер проявления системы АФК. Так после некоторых воздействий, повышающих содержание АФК относительно равновесных значений, могут наблюдаться мощные вспышки флуоресценции при $\lambda_{\text{возб.}} = 250\text{-}310$ нм, аналогичные происходящим при разложении перекиси водорода при катализе двухвалентным железом. Через несколько часов после кратковременного лазерного облучения воды He-Ne лазером возникают колебания хемилюминесцентного сигнала, продолжающиеся десятки часов [2]. Ритмические проявления АФК можно усилить, добавив в воду малые количества перекиси водорода и бикарбоната натрия. Тогда в закрытой пробирке в течение многих месяцев наблюдаются колебания интенсивности свечения, сопровождающего образование и распад радикалов АФК [3]. Аналогичные явления возникают с малыми добавками ацетона и флуоресцентного зонда АНС [4]. Процесс идет через периодическое накопление и разрушение перекисных соединений с возникновением излучений света.

Эксперименты с растворами солей (NaCl, KCl) и ацетона (C₃H₆O), разведенных 15 раз в степени 1:100 водой (с интенсивным встряхиванием после каждого разведения), а также с чистой водой, подвергнутой встряхиванию, позволяют сделать некоторые выводы о ритмах наблюдаемых процессов.

Методами фликкер-шумовой спектроскопии исследованы числовые ряды кинетических зависимостей рэлеевского светорассеяния этих систем после одинакового механического воздействия и их изменение с течением времени. Проведен анализ как исходных кинетических кривых, так и их отображений по факторам нестационарности, показывающим моменты скачкообразных перестроек (всплесков интенсивности светорассеяния) рассматриваемых систем. Особенности вышеуказанных систем сопоставляли с таковыми для чистой воды, подвергнутой электролизу в электролизной ячейке с отдельными объемами для катода и анода. В воде обработанной электролизом, образуются АФК с восстановительной и окислительной тенденцией вблизи катода и анода соответственно, что позволяет различить эффекты разных видов АФК. Полученные результаты позволяют заключить, что последовательное разведение и встряхивание водных растворов ведет к росту содержания АФК (по сравнению с равновесными значениями) и усилению их реакций с примесями и растворенными атмосферными газами. В каждой из высоко разбавленных систем на основе различных химических растворов в каждый промежуток времени реализуется свой «аккорд» частот фликкер-шумов. Оказалось, что во всех одновременно приготовленных системах, одинаково разбавленных выше предела Авогадро, наблюдаются одни и те же частоты наиболее заметных перестроек. В нашем эксперименте наиболее заметные частоты для факторов нестационарности составляли 3,2; 6,2; 9,5 и 12,7 мГц. Наблюдаемые частоты зависят от условий приготовления и наблюдения образцов, но в каждой из этих систем есть свой ритм изменения интенсивности отдельных компонент. Обнаружено, что сразу после приготовления и, по крайней мере, в течение последующих двух суток эти системы достоверно отличаются друг от друга и от исходной воды по значениям электропроводности, рН и редокс-потенциала, а также по изменениям этих параметров под

действием ультрафиолетового облучения. В каждой из них выявляются свои ритмы изменения амплитуд разных частот факторов нестационарности. Различные добавки действуют на эти системы также по-разному.

Можно заключить, что при одинаковом химическом составе водных систем, приготовленных одновременно и разбавленных одинаково выше предела Авогадро, их состояние различно. Оно определяется системой АФК, которая в каждой из этих систем колеблется в собственном ритме.

1. Belovolova L.V., Glushkov M.V., Vinogradov E.A., Influence of Dissolved Gases on Highly Diluted Aqueous Media // Biophysics, 2014, vol. 59, no 4, pp.524 -530. doi: 10.1134/S0006350914040046

2. Gudkov S.V., Bruskov V.I., Astashev M.E. et al. Oxygen-Dependent Auto-Oscillations of Water Luminescence Triggered by the 1264 nm Radiation // J. Chem. Phys. B, 2011, vol. 115, pp. 7693-7698, www.biophys.ru/archive/h2o-00022.pdf.

3. До Минь Ха, Мухитова О.Г., Виленская Н.Д. и др. Активированные перекисью водорода водные растворы бикарбонатов – долговременные источники низкоинтенсивного излучения, реагирующие на слабые и сверхслабые воздействия // Биомед. радиоэлектроника, 2011, т. 2, с. 28-38.

4. Belovolova L.V., Glushkov M.V., Vinogradov E.A. Effect of Acetone and the Probe 1-Anilino-8-Naphthalenesulfonate on Water as Estimated by Fluorescence in the UV Region // Biophysics, 2011, vol. 56, no. 2, pp. 181-187. doi: 10.1134/S0006350911020059

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ SiO₂-ГИДРОКСИЛАПАТИТНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ИМПЛАНТОВ Nanocomposite Coatings Based On SiO₂-Hydroxylapatite Complex for Metal Implants Biocompatibility Increasing

Бурункова Ю.Э., Свяжина Д.С., Фисенко А.А., Стрельникова И.Е., Левшиц М.Д., Мизина Д.Р.,
Чарнович И., Кокениши Ш.

Национальный исследовательский университет ИТМО, г. Санкт-Петербург, РФ, d.sviashina@gmail.com

На сегодняшний день актуальными проблемами материалов для приложений медицины остаются решение вопросов, связанных с повышением биосовместимости с органической тканью и уменьшение воспалительных явлений, связанных с введением имплантируемых элементов. Не смотря на то, что титановые импланты хорошо зарекомендовали себя в ортопедии и стоматологии, проблема уменьшения количества отторжений и послеоперационных осложнений актуальна.

В данной работе предложен способ решения проблемы повышения биосовместимости путем нанесения на поверхность титана полимерного с биоактивным комплексом пористого покрытия, которое частично резорбируется после его введения в организм и способствует пролиферации клеток костной ткани в материал. Дополнительно введенные бактерицидные агенты уменьшают риск развития микробных инфекций.

Материал покрытия разработан на основе частично резорбируемого синтетического бифункционального мономера и биоактивного комплекса желатины и акрилового монофункционального мономера с силиконовым гидроксилатапатитом. Жидкая композиция наносится на титановую поверхность. После фотоотверждения модифицированный имплант выдерживается в водной среде. В результате десорбции одного из компонентов состава в материале формируется пористая структура. Полученный объем пор был определен весовым методом и составляет минимально 15% в зависимости от набора компонентов.

В качестве синтетических бифункциональных мономеров были выбраны чисто акриловый и уретан-акриловый мономеры. Как показали исследования, проведенные методом ИК спектроскопии, использование чисто акрилового бифункционального мономера приводит к достижению большей степени конверсии при полимеризации в композитном составе. К достоинствам уретан-акрилатного бифункционального мономера следует отнести то, что состав на его основе проявляет более высокую скорость разложения, что было определено при выдерживании пленочных композитов в модельной физиологической среде.

Как известно [1], введение кальций фосфатных частиц может способствовать пролиферации клеток костной ткани в материалах. Поэтому была разработана технология получения силиконовых гидроксилатапатитных субмикронных частиц, покрытых оболочкой желатины и акрилового мономера, что позволяет ввести их в полимеризующуюся среду акриловых мономеров с получением однородного композита. Размер частиц определен методом DLS и составляет 500-700 нм.

Проведенные исследования угла смачиваемости композитов свидетельствуют, что материалы гидрофильны и обладают высоким влагопоглощением. Скорость сорбции воды зависит от состава материалов.

Изучено влияние состава материалов на токсичность и биосовместимость с микроорганизмами путем их культивации на поверхность покрытий. Созданные полимерные нанокompозиты не изменяют жизнеспособность дендритных клеток человека и не ингибируют пролиферацию пробиотических молочнокислых бактерий. Введение в качестве бактерицидного агента наночастиц оксида цинка подавляет развитие стафилококка и кишечной палочки.

Результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований полученных составов для покрытий имплантов.

1. Feng Q. et al. Dynamic and cell-infiltratable hydrogels as injectable carrier of therapeutic cells and drugs for treating challenging bone defects // ACS central science, 2019, vol. 5, no. 3, pp. 440-450.

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ФУЛЛЕРЕНА C_{60} В ВОДНОМ РАСТВОРЕ С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ АРОМАТИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ: ДОКСОРУБИЦИНОМ, МЕТИЛЕНОВЫМ ГОЛУБЫМ И ПРОФЛАВИНОМ
Complexation of Fullerene C_{60} in an Aqueous Solution with Antitumor Aromatic Drugs: Doxorubicin, Methylene Blue and Proflavin

Воронин Д.П., Мягченко Р.О., Евстигнеев М.П.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, dpvoronin@sevsu.ru

Ароматические биологически активные соединения (БАС) составляют важную группу химиотерапевтических препаратов, обладающих широким спектром медико-биологического действия и активно применяющихся в клинической практике в настоящее время. В работе рассмотрены типичные ароматические БАС – противоопухолевый антибиотик доксорубин (DOX), мутаген профлавин (PF) и краситель метиленовый голубой (МВ), использующийся в фотодинамической терапии. Механизм биологического действия ароматических БАС обусловлен интеркаляцией в ядерную ДНК с последующим блокированием жизненно важных процессов – репликации и транскрипции ДНК в клетке. С физико-химической точки зрения интеркаляция является следствием наличия в структуре ароматических БАС плоского гетероциклического хромофора, способного формировать прочные нековалентные стэкинг-комплексы с парами оснований нуклеиновых кислот. С другой стороны, этот же механизм, отчасти, является и причиной высокой побочной токсичности ароматических БАС, затрудняющей их применение на практике.

Одним из эффективных способов понижения токсичности и повышения медико-биологической активности ароматических БАС является создание молекулярных систем, способных образовывать нековалентные комплексы с лекарственными препаратами и выступать, тем самым, в качестве «модуляторов» их медико-биологического отклика. Примером таких систем являются наночастицы углерода, в частности, фуллерен C_{60} .

В работе предложена модель комплексообразования фуллерена C_{60} с ароматическими БАС. В рамках данной модели предполагается, что в водном растворе фуллерена образуются стабильные агрегаты фрактального типа. Это достигается путем использования простейшей двухуровневой иерархии распределения агрегатов во фрактальной серии 1–4–7–13, известной из литературных данных, т.е. C_{60} , $4 \times C_{60}$, $7 \times C_{60}$, $13 \times C_{60}$, $4 \times (C_{60})_{13}$, $7 \times (C_{60})_{13}$, $13 \times (C_{60})_{13}$.

На рисунке 1 показаны структуры комплексов Фуллерен C_{60} – БАС, полученные с помощью метода молекулярной механики.

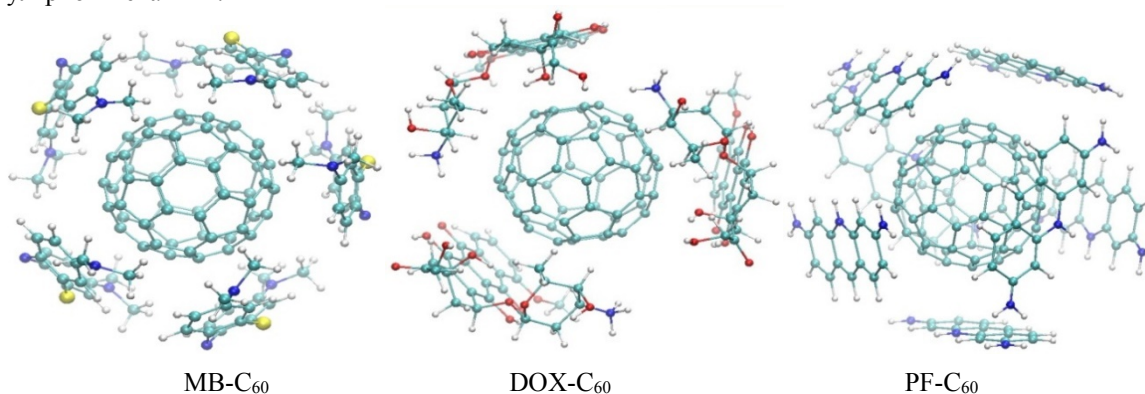


Рисунок 1. Структуры комплексов Фуллерен C_{60} – БАС при максимальном покрытии поверхности фуллерена C_{60} лигандом

Данные о равновесных константах связывания фуллерена с БАС были получены из экспериментальных зависимостей оптической плотности в максимуме поглощения лигандов как функции концентрации фуллерена за вычетом спектра раствора фуллерена без лиганда в кювете сравнения (для исключения фонового рассеяния от агрегатов фуллеренов).

Была проведена аппроксимация экспериментальных кривых по модели с дискретной агрегацией фуллерена (табл. 1).

Таблица 1. Расчетные константы комплексообразования ароматических БАС с фуллереном C₆₀

Лиганд	$K_L, M^{-1}, T = 298 K$
DOX	61900
MB	6660
PF	16440

Полученные результаты отражают достаточно хорошее соответствие теории и эксперимента.

**ЭФФЕКТ НА-АСКОРБАТА В ЗАЩИТЕ АКТИВНОСТИ ФС II В УСЛОВИЯХ
ОДНОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ CO²⁺ И ФОТОИНГИБИРОВАНИЯ**
**Effect of Na-Ascorbate in the Protection of PS II Activity UNDER Conditions of Simultaneous Action of Co²⁺
and Photoinhibition**

Ганиева Р.А.¹, Атакишиева С.А.¹, Гасанов Р.А.²

¹ Институт ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана,
г. Баку, Азербайджан, *SevincAtakisiyeva@gmail.com*

² Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, *ra38hasan@gmail.com*

Проведены исследования функционального состояния фотосистемы II (ФС II) в листьях проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.), подвергнутых одновременному влиянию Co²⁺ и фотоингибирования.

Изменения флуоресцентных характеристик миллисекундной замедленной флуоресценции (мсек ЗФ Хл *a*) показали, что действие Co²⁺ приводит к падению активности переноса электрона как на донорной, так и на акцепторной стороне электрон транспортной цепи (ЭТЦ) ФС II в 1,8 раза, относительно контроля [1]. После 2-х часового действия на проростки светом высокой интенсивности, активность донорной стороны ЭТЦ ФС II уменьшается в 1,6 раза, а акцепторной стороны - в 3 раза, относительно контроля. Через 24 часа фотоингибирования активность донорной стороны снижается в 3 раза, а активность акцепторной стороны - в 2,3 раза. При одновременном воздействии на проростки обоих стрессоров функциональная активность ФС II остается на уровне действия Co²⁺.

Показано, что адаптивные возможности реакций, протекающих в ЭТЦ ФС II, в листьях, перенесших двойной стресс, стимулируются низкомолекулярным антиоксидантом Na-аскорбатом [2]. Наблюдается резкое возрастание активности ЭТЦ, которая превышает контрольный показатель. Свободные радикалы, образующиеся при окислительном стрессе, вызываемом действием Co²⁺ и светом высокой интенсивности, выступают в качестве «реактивных молекул», повреждающих фотосинтетическую мембрану [3]. Na-аскорбат способен тушить реактивные формы кислорода и, тем самым, восстанавливать окислительно-восстановительное равновесие между фотосистемами.

1. GaziyeV A., Aliyeva S., Kurbanova I. et al. Molecular operation of metals into the function and state of photosystem II // *Metallomics*, 2011, vol. 3, iss. 12. doi: 10.1039/c1mt00100k

2. Jafarova J., Ganiyeva R., Bayramova S., Gasanov R. The nature of PS II reactions stability under oxidative stress // *Bangladesh journal of botany*, 2019, vol. 48, no. 4. doi: 10.3329/bjb.v48i4.49051

3. Barber J., Andersson B. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis // *Trends in Biochemical Sciences*, 1992, vol. 17, iss. 2. doi: 10.1016/0968-0004(92)90503-2

**ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КИНЕТИКИ ИЗМЕНЕНИЯ МЕМБРАННОГО
ПОТЕНЦИАЛА И УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК *CHARA FRAGILIS* ПОД ДЕЙСТВИЕМ
ТЕТРАЭТИЛАММОНИЯ**

Electrophysiological Analysis of the Kinetics of Changes of the Membrane Potential and Resistance of *Chara fragilis* Cells under the Influence of Tetraethylammonium

Гасанова А.Е.

Институт ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана,
г. Баку, Азербайджан, *ahasanova89@gmail.com*

В наших исследованиях в качестве объекта исследований были использованы междоузловые клетки водных растений *Chara fragilis*, обнаруженные нами в Товузском районе, на территории «Катиб булагы» в небольшом водоеме. Клетки *Chara fragilis* в электрофизиологии растительных клеток впервые были применены

нами [1]. Измерение биоэлектрических параметров клеток *Chara fragilis* осуществлялось с применением стандартной микроэлектродной техники [2].

Что касается тетраэтиламмония, эти ионы были установлены как блокаторы K^+ -каналов при выяснении механизма процессов раздражения и возбуждения нервных мембран Хочкин-Хаксли [3]. В настоящее время ТЕА⁺ уже является стандартным блокатором для всех типов каналов K^+ .

В наших измерениях мы использовали йодную соль блокатора. Влияние ТЕА⁺ на биоэлектрические параметры мембраны зависело как от концентрации блокатора, так и от исходного уровня мембранного потенциала исследуемых клеток *Chara fragilis*. Минимальная концентрация блокатора, вызывающего электрофизиологическую реакцию, составляла 10^{-7} М. Во всех случаях, даже при высоких значениях мембранного потенциала, введение 10^{-7} М ТЕА⁺ в окружающую среду приводило к значительной гиперполяризации плазматической мембраны. Последовательное увеличение концентрации ТЕА⁺ до 10^{-3} М сопровождалось гиперполяризацией плазматической мембраны.

Гиперполяризация плазматической мембраны под действием ТЕА⁺ происходила на всех уровнях мембранного потенциала в диапазоне $-140 \div -270$ мВ. Под действием этого иона некоторые клетки стали гиперполяризованными до -300 мВ.

Введение 10^{-7} М ТЕА⁺ в среду клеток с начальным уровнем мембранного потенциала $-180 \div -185$ мВ гиперполяризовало плазматическую мембрану в пределах 10 мВ. Эта гиперполяризация сопровождалась увеличением сопротивления плазматической мембраны на 30%. Увеличение концентрации блокатора в среде до 10^{-6} приводило к увеличению мембранного потенциала на абсолютную величину 15 мВ. Этот эффект блокатора сопровождался снижением сопротивления плазматической мембраны на 15%. Постепенное увеличение концентрации блокатора в окружающей среде до 10^{-3} М приводило к гиперполяризации мембраны на 35-40 мВ и резкому снижению сопротивления мембраны. Сопротивление плазматической мембраны в присутствии 10^{-3} М ТЕА⁺ было на 10% ниже, чем его уровень в ИПВ (искусственная прудовая вода).

Эти описанные эффекты блокатора хорошо совместимы с его воздействием на плазматическую мембрану клеток *Nitella flexilis* и *Chara gymnohylla* [4].

“Аномальный” эффект резкого снижения мембранного сопротивления клеток, в условиях гиперполяризации действием блокатора, рассматривался в упомянутых исследованиях с точки зрения взаимодействия двух компонентов первичной активной транспортной системы плазматической мембраны через внутримембранное электрическое поле. Результаты наших измерений показывают, что катионы ТЕА⁺ надежно блокируют K^+ - каналы плазматической мембраны клеток *Chara fragilis*. С другой стороны, взаимодействие между элементами исходной активной транспортной системы плазматической мембраны показывает, что расстояние между этими компонентами находится на уровне толщины мембраны.

1. Hasanova A., Najafaliyeva Sh., Aliyeva P., Musayev N. *Chara fragilis* cells – a new object for electrophysiology research // Baku Engineering University. Chemistry and Biology, 2018, vol. 2, no. 1, pp. 8-14.

2. Hogg J., Williams E.J., Jhonston R.I. A simplified method for measuring membrane resistances *Nitella translucens* // Biochim. et Biophys. Acta, 1968, vol. 150, p. 518.

3. Hodgkin A.L., Huxley A.F. Current carried by sodium and potassium ions through the meniorane of the giant axon of *Loligo* // Journ. Physiol., 1952, vol. 116, pp. 449-472.

4. Высоцкая Ж.В., Функциональная взаимосвязь катион-транспортных систем плазматической мембраны растительной клетки // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук, Ин-т экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, 2007, 23 с.

ГИДРОКАРБОНАТ НАТРИЯ КАК ИСТОЧНИК УГЛЕРОДА ДЛЯ ИНТЕНСИВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *PORPHYRIDIDIUM PURPUREUM (BORY) DREW ET ROSS.* В ПРОМЫШЛЕННЫХ МАСШТАБАХ

Sodium Bicarbonate as a Carbon Source for Intensive Cultivation of *Porphyridium Purpureum* (Bory) Drew et Ross. On an Industrial Scale

Геворгиз Р.Г.¹, Железнова С.Н.¹, Уваров И.П.²

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»,
г. Севастополь, РФ, r.gevorgiz@yandex.ru

² ГБУ Новосибирской области «Управление ветеринарии города Новосибирска»

Традиционно при культивировании *Porphyridium purpureum* как в лабораторных, так и в промышленных масштабах в качестве единственного источника углерода используют уголекислоту из баллона [1]. В исключительных случаях также используют органические источники углерода, но они не получили широкого распространения для промышленных масштабов из-за возникающих проблем обильного развития сопутствующих микроорганизмов.

Известно, что красные микроводоросли являются результатом первичного эндосимбиоза цианобактерий и гетеротрофных организмов, поэтому они унаследовали многие свойства своих прородителей. Одним из таких

свойств является способность поглощения неорганического углерода как в форме уголекислоты, так и в форме бикарбонат-иона. Такие особенности углеродного метаболизма позволяют *Porphyridium purpureum* расти и вегетировать в водоёмах с широким диапазоном pH.

Способность поглощать гидрокарбонат-ионы клетками микроводорослей позволяет в качестве источника углерода при интенсивном культивировании использовать гидрокарбонат натрия (пищевая сода). По справочным данным растворимость пищевой соды достаточно высока и составляет более 90 г/л, поэтому гидрокарбонат натрия используют в питательных средах для интенсивного культивирования многих видов микроводорослей. Примером такой среды является питательная среда Заррук для спирулины. Важно также отметить, что наличие гидрокарбонат-ионов в питательной среде повышает буферность питательного раствора, что приводит к исключению резких изменений pH среды.

Porphyridium purpureum является представителем морских видов красных водорослей. Поэтому все питательные среды для его интенсивного культивирования готовят на основе морской воды, например, питательную среду Тренкеншу [2]. Отметим, что в состав питательных сред не входит источник углерода, поскольку предполагается, что в процессе культивирования в суспензию будет подаваться уголекислота.

При интенсивном культивировании микроводорослей в промышленных масштабах не всегда целесообразно использовать уголекислоту для обеспечения клеток углеродом. Например, при выращивании водорослей в фотобиореакторах типа бассейн с глубиной 8-10 см растворение CO₂ из баллона в суспензии сопровождается немалыми трудностями. Более удобным с технологической точки зрения является гидрокарбонат натрия.

В данной работе была поставлена цель получения интенсивной культуры *Porphyridium purpureum* в промышленных масштабах, которая в качестве источника углерода использует гидрокарбонат натрия.

Для выполнения поставленной цели были определены оптимальные концентрации источника углерода. После чего модифицирована питательная среда Тренкеншу путем добавления оптимального количества пищевой соды 21 г/л. Растворимость NaHCO₃ в черноморской воде составляет более 65 г/л при температуре 20°C. Но при растворении NaHCO₃ в питательной среде более 21 г/л наблюдается замедление роста *Porphyridium purpureum*. В присутствии гидрокарбоната натрия в среде растворимость фосфатов уменьшается, поэтому была уменьшена концентрация однозамещённого фосфата натрия до 0,2 г/л. При растворении 21 г/л соды в морской воде NaH₂PO₄ * 2H₂O более 0,2 г/л не растворялось.

Модифицированную питательную среду Тренкеншу с высоким содержанием гидрокарбоната натрия использовали для интенсивного культивирования *Porphyridium purpureum* в промышленном фотобиореакторе при естественном освещении. При глубине 10 см в пасмурную погоду (освещённость рабочей поверхности в течение дня 7-12 клк) продуктивность составила 2,5 г/(м²*сут).

Отметим, при высокой облучённости у накопительных кривых не наблюдалось стационарной фазы роста. При достижении максимальной плотности культура переходила в фазу отмирания. Возможно, это связано с высокими значениями pH, при которых многие биогенные элементы становятся недоступными для клеток в связи с малой растворимостью некоторых солей в щелочной среде.

Таким образом, показано, что для интенсивного культивирования *Porphyridium purpureum*, как в лабораторных, так и в промышленных масштабах в качестве источника углерода может быть использована пищевая сода в концентрациях до 21 г/л и более.

1. Richmond A., Hu Q. Handbook of Microalgal Culture Applied Phycology and Biotechnology. Second Edition. New Delhi, 2013, 726 p.

2. Тренкеншу Р.П., Белянин В.Н. Влияние элементов микроэлементного питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch // Биология моря, 1979, № 51, с. 41-46.

ВИХРЕВОЕ ПЕРЕМЕШИВАНИЕ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ Vortex Mixing of Microalgae Cultures

Геворгиз Р.Г.¹, Уваров И.П.², Железнова С.Н.¹

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»,
г. Севастополь, РФ, r.gevorgiz@yandex.ru

² ГБУ Новосибирской области «Управление ветеринарии города Новосибирска».

Одним из важнейших параметров условий культивирования низших фототрофов является перемешивание суспензии клеток. Интенсивность перемешивания культуры многократно увеличивает её продуктивность, увеличивает скорость практически всех субстратзависимых процессов, а также биосинтез ценных биологически активных веществ и пр. Перемешивание культуры в значительной мере изменяют условия культивирования: 1. Активное перемешивание суспензии клеток повышает вероятность встречи лимитирующего биогенного элемента с клеткой, что увеличивает скорость реакции в узком месте метаболизма. 2. Исключение образования концентрационных ям во всем объём фотобиореактора. 3. Для фототрофов активное перемешивание снижает время нахождения клеток в области облучённости ниже компенсационного пункта фотосинтеза. 4. Активное

перемешивание культуры удаляет продукты жизнедеятельности клеток из околоклеточной среды. 5. Активное перемешивание культур низших фототрофов позволяет удалить из суспензии избыток растворенного кислорода, ингибирующего рост клеток. 6. Активное перемешивание культуры снижает проявление процессов адгезии, что способствует замедлению или исключению обрастания поверхностей фотобиореактора. 7. Активное перемешивание, как правило, препятствует агглютинации микроводорослей, что обеспечивает равные условия культивирования для всех клеток. 8. Кроме того, при использовании сжатого воздуха для перемешивания (барботажа культуры воздухом) в суспензию проникает атмосферный CO₂, что увеличивает скорость темновых процессов фотосинтеза.

Для перемешивания культур микроводорослей используют различные методы. Как правило, в лабораторных исследованиях используют пневматическое перемешивание посредством барботажа воздухом (в специальных исследованиях вместо воздуха используют другие газы). Обусловлено это дешевизной и доступностью аквариумных компрессоров. При увеличении объёма суспензии кроме барботажа воздухом зачастую используют механический способ перемешивания: насосы различной конструкции и механические мешалки. Для промышленных фотобиореакторов большая часть устройств для перемешивания суспензии клеток заимствована из химической промышленности. Однако в связи с биологическими особенностями различных видов микроводорослей разнообразие конструкций весьма ограничено, поскольку на перемешивание суспензии налагается ряд ограничений. Например, при перемешивании не должны разрушаться клеточные оболочки, трихомы, жгутики и пр., при перемешивании не должно возникать локальное завышение температуры, перепады давлений в различных частях рабочего объёма фотобиореактора должны быть незначительными и т. д.

Из всех известных способов перемешивания суспензии клеток наиболее эффективным можно считать перемешивание за счёт создания над суспензией воздушного вихря (управляемого торнадо) [1, 2]. Вихрь над поверхностью культуры клеток создает вихревые потоки внутри суспензии, благодаря которым происходит достаточно «мягкое» перемешивание, не травмирующее культивируемые клетки. Газовихревое перемешивание суспензии клеток позволяет получать в промышленных масштабах биомассу практически любых типов клеток: микроводорослей, бактерий, грибов, животных клеток, клеток человека и даже вирусов.

Существенным недостатком газовихревого перемешивания является уникальность и дороговизна оборудования. При изменении масштабов фотобиореактора, при внесении каких-либо конструктивных дополнений всегда требуются новые расчёты для устройства, создающего управляемое торнадо. Все это ограничивает распространение и применимость газовихревого перемешивания суспензии клеток как для лабораторных, так и для промышленных масштабов. Однако нами показано, что для перемешивания культур микроводорослей достаточно создание вихря внутри суспензии. Это обстоятельство в значительной мере упрощает конструкцию фотобиореактора и перемешивающего устройства. Одним из простейших способов создания вихря внутри суспензии является вращение погружённого на определённый уровень плоского кольца (диафрагмы) посредством механического привода. Изготовление такого кольца возможно из любого прозрачного материала, например из листового поликарбоната, поэтому фотобиореакторы с вихревым перемешиванием становятся доступными для любой лаборатории и для любых масштабов.

1. Пат. 2125579 С1 RU, МПК С12М 1/14,3/00 Аппарат для суспензионного культивирования клеток тканей и микроорганизмов / Кислых В.И., Рамазанов Ю.А., Репков А.П. - № 98117375/13; Заявл. 22.09.1998; Опубл. 27.08.1999. Бюл. № 34.

2. Геворгиз Р.Г., Железнова С.Н., Зозуля Ю.В. и др. Промышленная технология производства биомассы морской диатомеи *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin с использованием газовихревого фотобиореактора // Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2016: материалы XI международной научно-технической конференции, г. Севастополь, 25-29 апреля 2016 г.: в 2 т. Севастополь, 2016, т. 1, с. 73-77.

ЛИПИДНЫЕ КАПЛИ МОГУТ ЗАМЕНЯТЬ МЛЕКОПИТАЮЩИМ МИЕЛОИДНЫЕ ТЕЛА В ПИГМЕНТНОМ ЭПИТЕЛИИ СЕТЧАТКИ

In Mammals, Lipid Globules May Replace RPE Myeloid Bodies as Lipid Depot

Гольшев С.А.¹, Орлов О.Ю.²

¹ Институт молекулярной биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ, г. Москва, РФ

² Институт проблем передачи информации РАН, г. Москва, РФ, graf@iitp.ru

Биофизика фоторецепции сопряжена с деградацией липидных мембран, несущих в себе фотопигменты. Это требует их постоянного обновления, что у позвоночных выражено в двух процедурах: (1) шеддинге – отлучивании апикальных концов фоторецепторов, с их последующим фагоцитозом в клетках пигментного эпителия, и (2) их ресинтезе на другом конце фоторецептора – в его базальной (сетчаточной) области. Шеддинг имеет выраженную суточную (циркадную) ритмику, с фазами относительного покоя и высокой активности, когда клетки пигментного эпителия оказываются загруженными значительной массой фагосом. Лизис массы

фагоцитированных рецепторных мембран сопровождается ростом доли свободных жирных кислот в их цитоплазме. Эти жирные кислоты принимают участие в рециклировании мембран рецепторов, но в итоге долгого пути, начинающегося с перехода в кровное русло, затем в печень и далее. Транспорт кислот в кровяное русло может быть осложнён деталями, осложняющими быстрый возврат состава цитоплазмы клеток к норме. В итоге, суточная ритмика шеддинга может вести к тому, что клетки пигментного эпителия регулярно подвергаются всплеску избытка жирных кислот, что в свою очередь требует средств временного хранения жирных кислот в нейтральной форме. По всей вероятности, именно этому служит формирование миелоидных тел - мультимембранных органоидов, в которых свободные молекулы кислот временно связаны в нейтральные структуры (классические мембраны).

Судя по всему, общность и самой проблемы, и способа её решения (нейтральное депо для жирных кислот) служит причиной того, что миелоидные тела присутствуют в пигментном эпителии множества позвоночных, от рыб до птиц - за одним многозначным исключением: миелоидных тел нет у млекопитающих. У них шеддинг тоже имеет суточную ритмику; следовательно, проблема депонирования жирных кислот стоит и перед их пигментным эпителием. Если так, то очевидно, что проблема решена, но каким-то иным способом, без формирования миелоидных тел. Спрашивается, каким?

Видимо, таким решением является формирование в клетках пигментного эпителия млекопитающих не мультимембранных миелоидных тел, а липидных капель, которые мы регулярно наблюдаем при электронной микроскопии глаз грызунов желтой пеструшки *Eolagurus luteus* и полёвки Брандта *Microtus brandti*. Более того, анализ электроно-микроскопических иллюстраций ряда прежних публикаций показывает, что липидные капли далеко не редкость в пигментном эпителии млекопитающих, а напротив, характерны для млекопитающих в целом. Видимо, этот факт просто не привлекал внимания и не обсуждался авторами по той причине, что включения, опознаваемые нами как липидные капли, либо и назывались ими иначе, либо даже правильно названные никогда не фигурировали в контексте липидного обмена в связи с шеддингом.

О КРИТЕРИИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩЕМ СИММЕТРИЮ И СТРУКТУРУ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОЙ СИСТЕМЫ: МОЛЕКУЛА ДНК И ЕЁ ВОДНОЕ ОКРУЖЕНИЕ **On the Criterion that Characterizes the Symmetry and Structure of the Supramolecular System: the DNA Molecule and Its Water Environment**

Горовой Ю.М.

Ярославский государственный технический университет, г. Ярославль, РФ, gorovoyj@mail.ru

В физике симметрию связывают с инвариантностью параметров системы относительно различных перемещений в пространстве, причем пространство понимают не только в геометрическом смысле. Супрамолекулярные системы, к которым относятся молекулы ДНК с их водным окружением, имеют сложную структуру. Симметричность или асимметричность такой структуры оказывает существенное влияние на биологические функции ДНК.

Определить степень симметричности (или асимметричности) супрамолекулярной систем молекулы ДНК можно, рассмотрев движение этой системы не в обычном пространстве, а в фазовом пространстве Гиббса. В этом пространстве состояние сложной системы описывают одной точкой, а координатами фазового пространства Гиббса служат координаты и импульсы всех элементов сложной системы. Ключевой параметр движения системы в фазовом пространстве Гиббса – фазовый объем – объем области этого пространства доступный для движения системы при постоянной энергии системы. Взаимодействие элементов сложной системы приводит к деформации фазового пространства (элементы супрамолекулярной системы ДНК взаимодействуют друг с другом!). Степень деформации (асимметричность) характеризует уменьшение фазового объема в результате его деформации. В статфизической трактовке логарифм фазового объема пространства Гиббса соответствует энтропии. Следовательно, степень деформации фазового объема (асимметричность) характеризует разность энтропий невзаимодействующих и взаимодействующих элементов сложной системы, т.е. разность энтропий нативной ДНК и невзаимодействующих элементов супрамолекулярной системы ДНК. Такая разность энтропий является количеством взаимной информации [1].

Количество взаимной информации А.Н. Колмогоров определил как «количество информации, содержащееся в переменном X относительно переменного Y» [2]. Количество взаимной информации равно разности информационных энтропий сложной системы, состоящей из взаимодействующих подсистем, и суммарной энтропии невзаимодействующих подсистем, которые могли бы составить такую сложную систему.

Параметр «количество взаимной информации» используют не только в теории информации, но и на практике: как физический параметр квантовых компьютеров. В сложных «запутанных» квантовых системах, состоящих из взаимодействующих подсистем, количество взаимной информации характеризует глубину «запутанности» квантовых систем. Количество взаимной информации для квантовых систем равно разности энтропий фон Неймана сложной системы и энтропий невзаимодействующих подсистем, которые составляют такую систему. Для квантовых компьютеров очень важно получить устойчивое «запутанное» состояние квантовых систем – состояние, которое характеризуется количеством взаимной информации.

Количество взаимной информации, характеризующее симметрию (асимметрию) супрамолекулярных системы ДНК можно определить как разность энтропий нативных ДНК (со своим водным окружением) и смеси аналогичного количества нуклеотидов с аналогичным количеством воды. Такая разность энтропий – такое количество взаимной информации - рассчитано для ДНК спермы лосося и составила 700 Дж/кг×К.

Таким образом, определен параметр – количество взаимной информации, характеризующий симметрию (или асимметричность) супрамолекулярной структуры: молекулы ДНК и её водного окружения.

1. Горовой Ю.М. О термодинамическом параметре, характеризующем изменение структуры молекулы ДНК в результате взаимодействия со своим водным окружением // VI Съезд биофизиков России, 2019, сборник научных трудов, т. 1, с. 109-110.

2. Колмогоров А.Н. Три подхода к определению понятия «количество информации» // Проблемы передачи информации, 1966, вып. 1, с. 3-11.

ФИЗИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ ЧЕРЕДОВАНИЯ ХИРАЛЬНОСТИ В ИЕРАРХИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР

Physical Reasons for the Alternation of Chirality in the Hierarchical Organization of Biological Structures

Горячев Н.С.

Институт проблем химической физики РАН, г. Черноголовка, РФ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, gor_ns@icp.ac.ru

В работах [1-3] была выявлена фундаментальная закономерность смены знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белков и нуклеиновых кислот. Наиболее ярко это выражено в структурной организации ДНК. Молекулы дезоксирибозы, соединенные фосфодиэфирными связями, образуют полимерный остов ДНК и являются D-изомерами, тогда как включающие их нуклеотиды находятся преимущественно в левой. Двойная спираль ДНК — правая. Последующая сверхспирализация имеет «левую» закрученность.

Для анализа этой закономерности мы решили применить элементы формальной механики и рассчитать величину изгиба спиралей.

Используя формулы дифференциальной геометрии, были проанализированы два вида спиралей:

- правая спираль навитая на правую спираль.
- левая спираль навитая на правую спираль (рис. 1).

Периоды и шаг спиралей были выбраны идентичными. В качестве меры сравнения были взяты значения величины кривизны вдоль полученных спиралей за один виток малой спирали. Согласно закону Гука, эта величина пропорциональна внутреннему напряжению.

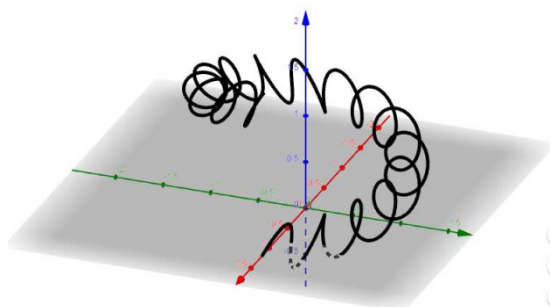


Рисунок 1. Вид левой спирали, навитой на правую

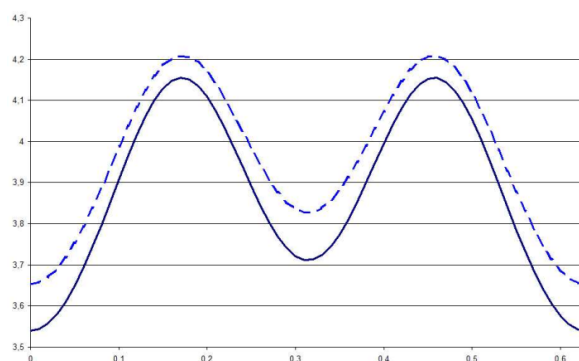


Рисунок 2. Значение кривизны (в относительных величинах). Сплошная линия – левая спираль, навитая на правую, пунктир – правая спираль, навитая на правую

На рисунке 2 представлены результаты расчетов кривизны приходящейся на один виток малой спирали. Как следует из графика в случае чередования вида закрученности, общее напряжение меньше, чем в случае закрученности одного вида.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что чередование вида закрученности биологических структур энергетически более выгодно.

1. Tverdislov V.A., Sidorova A. E., Iakovenko L.V. // Biophysics, 2012, vol. 57, no. 1, p. 146.

2. Твердислов В.А. // Биофизика, 2013, т. 58, № 1, с. 159.

3. Tverdislov V.A., Malyshko E.V., Il'chenko S.A. et al. // Biophysics, 2017, vol. 62, no. 3, p. 331.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ГАЗОВОЙ СМЕСИ НА ОСНОВЕ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА ДЛЯ ПРОДЛЕНИЯ СРОКОВ ГИПОТЕРМИЧЕСКОГО ХРАНЕНИЯ СЕРДЦА

Study of the Protective Property of a Gas Mixture Based on Carbon Monoxide for Prolonging the Timeframes of Heart Hypothermic Storage

Гурин А.Е., Гагаринский Е.Л., Фесенко Е.Е. (мл.)

Институт биофизики клетки РАН, Московская область, г. Пушкино, РФ, gurinae@pbcras.ru

Сегодня, активное развитие трансплантологии сдерживают недостаток доноров и малая длительность хранения трансплантатов. Несмотря на то, что в настоящий момент в мире выполняется около 154 000 трансплантаций, из них в России – порядка 2400 трансплантаций, число пациентов в листах ожидания в 4-5 раз превосходит число проводимых операций. Сердце является органом, имеющим наименьшее время хранения при использовании стандартных методов статической холодной консервации (4-6 часов), в отличие от печени (12 часов) и почки (24 часа). Малый срок хранения накладывает существенные ограничения на возможность забора органа в удаленных населенных пунктах и его последующую доставку в ведущие медицинские клиники для проведения трансплантации, что приводит к потере ограниченного донорского ресурса.

Одним из перспективных направлений продления срока хранения трансплантатов является гипотермическое хранение органов под давлением биологически активных газов или газовых смесей. Проведены исследования органопротекторных свойств газовой смеси, состоящей из монооксида углерода и кислорода в соотношении 1:1, на модели гипотермической консервации сердца крысы под избыточным давлением. Функциональную активность сердца оценивали по максимальному времени работы на перфузионном стенде до остановки желудочков и частоте сердечных сокращений снимаемых каждые 15 минут. Уровень инфаркта миокарда определяли с помощью окрашивания тканей сердца хлоридом трифенилтеразолия.

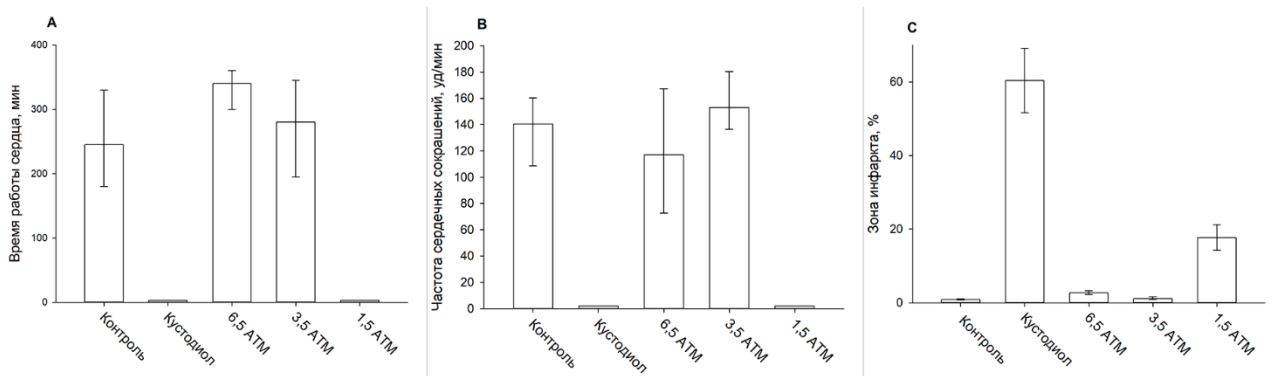


Рисунок 1. Результаты оценки сохранности сердца после 24-х часовой консервации. А – максимальное время работы сердца до остановки желудочков. В – частота сердечных сокращений. С – Площадь ишемических повреждений сердца. Группа «Контроль» (n=3) не подверглась хранению; группа «Кустодиол» (n=6) хранилась в растворе Кустодиол при 4°C, Группы «6,5 АТМ» (n=6), «3,5 АТМ» (n=6) и «1,5 АТМ» (n=6) хранились при 4°C под давлением газовой смеси 6,5 АТМ, 3,5 АТМ и 1,5 АТМ соответственно

Показано, что давление газовой смеси 3,5-6,5 АТМ обеспечивает высокий уровень сохранности миокарда при пролонгации хранения до 24 часов, что превышает время классической холодной консервации кардиоплегическими растворами в 3-4 раза. Сокращения сердец в данных группах самопроизвольно восстановились после начала перфузии, продолжительность работы незначительно отличалась от интактного контроля. Последующее снижение давления до 1,5 АТМ не обеспечивало необходимый уровень сохранности органа при консервации, на окрашенных хлоридом трифенилтеразолия срезах были выявлены инфарктные зоны.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ЭКСТРАКТЫ В ЗАЩИТЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Plant extracts in protection of photosynthetic pigments in oxidative stress

Дадашева С.Б., Курбанова И.М.

Институт ботаники Национальной Академии Наук Азербайджана, г. Баку, Азербайджан, sevil_fotosintez@mail.ru

Проведены исследования состояния Хл b_{645} и Хл a_{680} в листьях пшеницы (*Triticum aestivum* L.), подвергнутых действию высоких концентраций NaCl и CuSO₄.

Анализ спектров поглощения показал, что окислительный стресс вызванный действием CuSO₄ снижал содержание Хл b_{645} в 1,6 раза, а Хл a_{680} – в 3 раза. Действие NaCl было более агрессивным - наблюдалось уменьшение содержания Хл b_{645} в 3 раза, а Хл a_{680} – в 5,5 раза.

При комплексном действии стрессоров, резкого снижения количества пигментов не наблюдалось, их содержание оставалось на уровне действия CuSO₄. При этом количество Хл b_{645} уменьшалось в 2 раза, а Хл a_{680} – в 3,3 раза. Отмечены изменения и в соотношении пигментов. Деструктивные изменения пигментов, возникающие под действием стрессоров, восстанавливались при добавлении экстрактов солодки (*Radix glycyrrhizae*) имеющий в составе сапонин-глицирризин [1] и шалфея (*Folia Salvia officinalis*) содержащего сапонины, урсоловую, олеаноловую кислоты, каротин, витамин С в среду выращивания проростков. Вероятно, эффект экстрактов солодки и меньшей степени шалфея в защите тилакоидной мембраны от повреждения объясняется высоким содержанием антиоксидантных веществ способных нейтрализовать реактивные формы кислорода.

1. Дамиров И.А., Прилипко Л.И., Шукюров Д.З., Керимов Ю.Б. Лекарственные растения Азербайджана. Изд. «Маариф», Баку, 1982, 116 с.

ОЦЕНКА БИОМАССЫ *PORPHYRIDIUM PURPUREUM* (BORY) DREW ET ROSS ПО ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ КУЛЬТУРЫ

Determination of *Porphyridium Purpureum* (Bory) Drew et Ross Biomass by Optical Culture Density

Железнова С.Н.¹, Геворгиз Р.Г.¹, Клочкова В.С.²

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»,
г. Севастополь, РФ, r.gevorgiz@yandex.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

В литературе описаны разные методы измерения плотности культур микроводорослей: оптический метод, весовой метод, метод окисляемости биомассы, прямой подсчёт клеток и пр. [1]. Оптические методы широко используются в биологии, так как требуют наименьших затрат по времени и ресурсам. Однако, мы сталкиваемся с целым рядом факторов, которые так или иначе приводят к значительным погрешностям. Например, красные микроводоросли в стационарной фазе роста синтезируют большое количество экзополисахаридов, которые обволакивают клетку и защищают ее от агрессивных внешних условий среды [2, 4]. Экзопалисахариды, попадая в питательную среду, повышают вязкость культуры и мутность культуральной среды, что затрудняет оценку плотности культуры оптическим методом и прямым методом взвешивания [2, 4]. Проблема экспресс оценки биомассы *P. purpureum* по измерениям оптической плотности культуры особенно остро стоит при культивировании микроводорослей в промышленных масштабах [3].

Целью работы – разработать экспресс метод, позволяющий проводить оценку биомассы *P. purpureum* посредством измерения оптической плотности культуры с использованием фотоэлектрорадиометра КФК-3.

Для достижения цели были проведены эксперименты с активно растущей культурой *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew et Ross из коллекции ФИЦ ИнБЮМ РАН. Все лабораторные эксперименты проводили в фотобиореакторах плоскопараллельного типа с рабочей толщиной слоя суспензии 3 см и объёмом 2 л в условиях круглосуточного освещения. Интенсивность света в разных точках на рабочей поверхности биореактора варьировала от 11,5 до 14 клк и в среднем составляла 13,5 клк. Плотность культуры определяли двумя методами: 1) прямым взвешиванием сырой массы в полипропиленовых пробирках в четырёх повторностях на аналитических весах с погрешностью 0,1 мг после осаждения клеток центрифугированием (1600 g) в течение 15 мин; 2) методом измерения оптической плотности культуры на длине волны 750 нм с использованием фотоэлектрорадиометра КФК-3 (кювета 0,5 см).

Установлена линейная зависимость оптической плотности культуры от сырой биомассы с углом наклона 0,051. Зная оптическую плотность у *P. purpureum*, можно сырую биомассу по уравнению: $B = 0,051 * D_{750}$, где B – сырая биомасса *P. purpureum*, г л⁻¹; D_{750} – оптическая плотность на длине волны 750 нм.

Таким образом, для оценки плотности культуры можно использовать коэффициент перехода между оптической плотностью и сырой массой $k=0,051$. Для пересчета полученных данных на сухую массу был получен экспериментальный коэффициент пересчёта между сухой и сырой массой ($k=0,13$, $n=10$).

Важно отметить, традиционно для оценки биомассы оптическими методами используют приборы, не предназначенные для измерений мутных сред, например, такие приборы как КФК-2, КФК-3, СФ-2000 и пр. Эти приборы не снабжены интегрирующей сферой, которая нивелирует рассеивающийся свет при измерении образца. Поэтому по сути на таких приборах измеряется не оптическая плотность, а мутность образца [5]. Используя спектрофотометр с интегрирующей сферой, нами показано, что в области 750 нм культура *P. purpureum* свет не поглощает.

1. Affan A., Heo S.-J., Jeon Y.-J., Lee J.-B. Optimal growth conditions and antioxidative activities of *Cylindrotheca closterium* // Journal of Phycology, 2009, vol. 45, Iss. 6, pp. 1405-1415. doi: 10.1111/j.1529-8817.2009.00763.x

2. Balti R., Le Balc'h R., Brodu N. et al. Concentration and purification of *Porphyridium purpureum* exopolysaccharides by membrane filtration at various cross-flow velocities // Process Biochemistry, 2018, vol. 74, pp. 175-184. doi: 10.1016/j.procbio.2018.06.021

3. Ding G.T., Takriff M.S., Salihon J., Abd Rahaman M.S. Feasibility of the optical density (OD) in the determination of the microalgal biomass using palm oil mill effluent (POME) as medium // International Journal of Advances in Science, Engineering and Technology, 2016, vol. 4, iss. 1, spl. iss-2, pp. 36-38.

4. Li T., Xu J., Wu H. et al. Growth and biochemical composition of *Porphyridium purpureum* SCS-02 under different nitrogen concentrations // Marine Drugs, 2019, vol. 17, Iss. 2, pp. 1-16. doi: 10.3390/md17020124

5. 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* // J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 2000, vol. 58, pp. 123-129. doi: 10.1016/s1011-1344(00)00114-7

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ В ЖИДКОМ АЗОТЕ

Study of Survival of the Human Gut Microbiota after Cryopreservation in Liquid Nitrogen

Заломова Л.В., Уграицкая С.В., Фесенко Е.Е. (мл)

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, zalomova.91@mail.ru

Проблема длительного хранения естественных симбиотических микроорганизмов человека – кишечной микробиоты является весьма актуальной в связи с осознанием важности микробных сообществ в развитии ряда заболеваний (ожирения, иммунодефицит некоторые формы рака и др.), развития персонализированной медицины. При сверхнизкой температуре жидкого азота (минус 196° С) микроорганизмы, населяющие желудочно-кишечный тракт человека, могут храниться долгие годы без потери биологической активности и быть пригодными для терапевтического использования в различных медицинских технологиях. В работе представлены результаты исследования выживаемости микробиоты кишечника человека после криоконсервации в жидком азоте под защитой различных криопротекторов: ДМСО, глицерина, этиленгликоля, полиэтиленгликоля (ПЭГ) и желатина. Методом флуоресцентного анализа было показано, что половина бактерий, входящих в состав биома, остаются жизнеспособными при замораживании в солевом растворе 0,9% NaCl без использования криопротекторов (табл. 1). Максимальная выживаемость бактерий достигалась под защитой 5% раствора ДМСО (табл. 1).

Таблица 1. Жизнеспособность микробиоты кишечника человека после криоконсервации (температура –196° С, срок хранения 120 часов) с проникающими и непроникающими криопротекторами, приготовленными на основе 0,9% NaCl (n=30)

Криозащитная среда	0,9% NaCl (отрицательный контроль)	ДМСО		Глицерин		Этиленгликоль		ПЭГ		Желатин	
		5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%
Концентрация раствора		5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%
Процент живых клеток	52 ± 2,6	86 ± 4,0	76 ± 4,0	82 ± 5,2	64 ± 4,4	82 ± 2,0	77 ± 3,1	55 ± 4,3	35 ± 2,7	60 ± 3,2	75 ± 5,0

В ходе работы был предложен новый подход с использованием гелия в качестве криозащитного агента, основанный на его успешном применении на эукариотических клетках [1]. Однако нам не удалось получить заметный криозащитный эффект со стороны гелия по сравнению с воздухом.

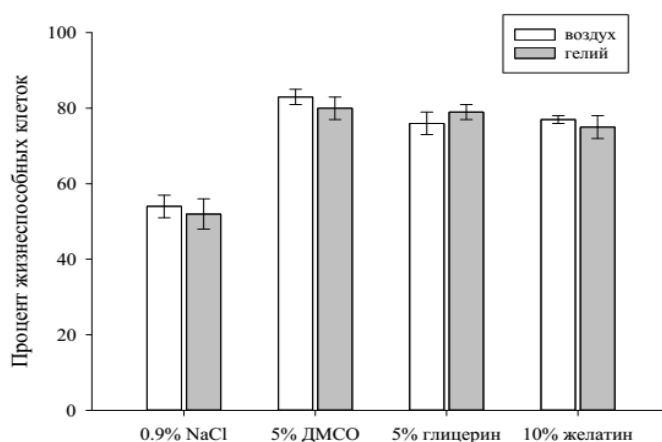


Рисунок 1. Жизнеспособность микробиоты кишечника человека после криоконсервации в жидком азоте под защитой классических протекторов, насыщенной в атмосфере воздуха и гелия в течение 3 ч (n=20)

1. Уграицкая С.В., Шишова Н.В., Гагаринский Е.Л. и др. Влияние гелия на криоконсервацию клеток линий Hela и L929 // Биофизика, 2018, т. 63, вып. 3, с. 510-517.

СПЕЦИФИКА ЯМР И ДИНАМИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДИФфуЗИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ АЛЬБУМИНА В ПРИСУТСТВИИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЛИГАНДОВ

NMR and Dynamic Light Scattering in Study of Diffusion Behavior of Albumin in the Presence of Low Molecular Ligands

Зуев Ю.Ф., Ситницкий А.Э., Кусова А.М.

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, РФ

Гидродинамический радиус молекулы белка – важный параметр, используемый при изучении свойств макромолекул *in vitro* и *in vivo*. Неинвазивные методы ядерный магнитный резонанс с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП) и динамическое рассеяние света (ДРС) часто используются для измерения коэффициента диффузии и получения соответствующих гидродинамических радиусов молекул. Однако мало кому известно о принципиальном различии этих методов как аналитического инструмента для определения размера белковых молекул. В данной работе методы ЯМР ИГМП и ДРС были применены для изучения влияния ионов переходных металлов на гидродинамическое поведение сывороточного альбумина человека (САЧ) в широком диапазоне концентраций белка. Результаты гидродинамического поведения САЧ, полученные с помощью ЯМР ИГМП, показали, что при низкой концентрации белок во всех случаях остается мономерным, однако при увеличении концентрации САЧ имеет тенденцию к димеризации в присутствии лигандов. Димеризация в этом случае проявляется в основном за счет увеличения трения между молекулами белка, тогда как трение между молекулой белка и растворителем уменьшается. С другой стороны, ДРС свидетельствует о мономерной форме САЧ в отсутствии низкомолекулярных лигандов и олигомерной форме САЧ в присутствии лигандов во всем изучаемом концентрационном диапазоне. Такой эффект связан с физическими особенностями измерений этими методами и наблюдается из-за быстрого обмена между мономерным и олигомерным состоянием САЧ, который может повлиять на ожидаемые значения, измеренные с помощью ЯМР ИГМП, но не влияет на сигналы ДРС. Следовательно, особенности режимов диффузии в рассматриваемых методах позволяют наблюдать различные характеристики гидродинамического поведения белков, что необходимо учитывать при анализе экспериментальных данных по трансляционной диффузии белков и получаемого из нее гидродинамического размера белка.

В докладе приводятся многочисленные экспериментальные данные по САЧ, полученные в разных условиях, и обсуждаются особенности их анализа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 20-04-00157.

ВЛИЯНИЕ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ЭРИТРОЦИТОВ *SCORPENA PORCUS*, ИНДУЦИРОВАННЫЙ ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА
Effect of C₆₀ Fullerene on Oxidative Stress of *Scorpena Porcus* Erythrocytes Induced by Hydrogen Peroxide

Кальпа В.А.^{1,2}, Гаджи А.В.², Лантушенко А.О.²

¹ ФИЦ Морской гидрофизический институт РАН, г. Севастополь, РФ, vel.kalpa@gmail.com

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Гидробионты в процессе жизнедеятельности постоянно находятся под воздействием биотических и абиотических факторов. Придонные организмы и обитатели приливных зон могут испытывать недостаток кислорода (гипоксию). Например, скорпены при угрозе со стороны хищников располагаются на дне и замирают, фактически прекращая дыхание и сердцебиение. Кроме того, гипоксические условия могут возникать при чрезмерном разрастании (цветении) фитопланктона и водорослей, активно поглощающих растворённый в воде кислород [1].

Гидробионты, находящиеся в приливных зонах, например, мидии, во время отлива также испытывают гипоксию. Гипоксия вызывает целый комплекс нарушений в организме двустворчатых моллюсков. На клеточном уровне гипоксия может индуцировать автоокисление дыхательных пигментов, угнетает обмен веществ, а также снижает иммунные функции гемоцитов в гемолимфе.

Моделирование гипоксических условий в экспериментах *in vitro* можно реализовать воздействием на эритроциты и гемоциты раствором пероксида водорода [2].

В ряде работ было показано, что воздействие фуллерена может снижать окислительный стресс [3].

Клеточные культуры являются удобной модельной системой для исследования окислительного стресса *in vitro* при различных патологических процессах, поскольку их использование позволяет исключить многие неспецифические факторы, сопровождающие индукцию свободнорадикального окисления *in vivo*. При этом пероксид водорода (H₂O₂), применяемый в моделировании окислительного стресса, способен индуцировать апоптотическую гибель клеток.

Отбор проб для эксперимента происходил следующим образом:

Из хвостовой артерии скорпены *Scorpena porcus* Linnaeus была отобрана кровь. После чего её промывали и центрифугировали 3 раза, для выпадения эритроцитов в осадок и дальнейшей работы с ними.

Далее кровь смешивалась со средой (состав среды: 128 mM NaCl, 3 mM KCl, 1.5 CaCl₂, 1.5 mM MgCl₂, 15 mM HEPES, 2.2 mM glucose), для получения раствора, использовавшегося в эксперименте.

Окислительный стресс моделировался добавлением в клеточную среду пероксида водорода в различных концентрациях (1M и 0,3mM).

Также поступили с фуллереном C₆₀: к 100 мкл водорастворимого C₆₀ добавили 900 мкл среды; к 10 мкл C₆₀ добавили 990 мкл среды.

Далее, чтобы выявить наличие влияния фуллерена C₆₀ на оксидативный стресс, смешали часть раствора с низкой концентрацией фуллерена C₆₀ и часть раствора с высокой концентрацией пероксида водорода.

Эксперимент по осмотической стойкости эритроцитов проводился с помощью лазерного анализатора частиц «Ласка-ТМ» (Биомедицинские системы, Россия) в ЦКП «Молекулярная структура вещества». Для оценки размера клеток использовался метод малоуглового светорассеяния.

В кювету наливали 1 мл среды, после чего добавляли клетки, чтобы выйти на первую точку при светопропускании 50-60%. Далее добавляли в 4 раза меньше клеток и 250 мкл воды и, помимо этого, после каждого разбавления, происходил отбор проб объёмом 100 мкл для осмотического теста.

При титровании концентрация клеток остаётся постоянной, а так как титрование осуществляется водой, меняется осмолярность среды и, соответственно, осмотическое давление клеток, приводящее к лизису.

В ходе эксперимента было показано, что пероксид водорода влияет на мембраны эритроцитов, моделируя окислительный стресс, что приводит к апоптозу эритроцитов. Фуллерен C₆₀ же, в свою очередь, компенсирует влияние пероксида водорода на мембраны эритроцитов.

1. Солдатов А.А. Функциональные аспекты существования морских организмов в зонах острой гипоксии // Труды ИБВВ РАН, 2019, вып. 88, № 91.

2. Шахристова Е.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л. Индукция пероксидом водорода окислительного стресса *in vitro* в эпителиальных клетках молочной железы для изучения апоптоза опухолевых клеток линии MCF-7 // Сибирский научный медицинский журнал, 2015, т. 35, № 2.

3. Орлова М.А., Трофимова Т.П., Орлов А.П. и др. Фуллерены и оксидативный стресс // Онкогематология, 2012, вып. 4, с. 11-15.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЯ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ γ М-КРИСТАЛЛИНОВ В ТКАНЯХ *CYPRINUS CARPIO*

Comparative Evaluation of γ M-Crystallins Transcription Level in Tissues of *Cyprinus carpio*

Капитунова А.И., Доминова И.Н., Жуков В.В.

Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта, г. Калининград, РФ, aikapitunova@mail.ru

Высокая преломляющая сила хрусталиков глаз рыб компенсирует низкую эффективность роговицы в водной среде. При этом радиальный градиент коэффициента преломления уменьшает aberrации изображения, создаваемые сферической линзой. Причину этих оптических особенностей можно усматривать не только в особенностях структуры, но и химическом составе. Преобладающими белками хрусталиков рыб являются γ М-кристаллины. Сопоставление их аминокислотного состава с последовательностями кристаллинов млекопитающих обнаруживает отсутствие консервативных пар триптофана в каждом домене и высокое содержание метионина, что, возможно, определяет высокое значение показателя преломления материала хрусталиков рыб [1,2]. Не исключено, что присутствие γ М-кристаллинов препятствует развитию катаракты у рыб [3]. Целью данной работы была оценка уровня транскрипции некоторых генов γ М-кристаллина в хрусталике, печени, мышечной, нервной тканях карпов *Cyprinus carpio* Парской породы.

Для анализа были взяты хрусталики 4-х месячных ($n = 10$) и годовалых ($n = 10$) *Cyprinus carpio*, после чего из них выделялась РНК, проводилась ОТ-ПЦР и оценивались уровни транскрипции 13 генов белков кристаллинов, в качестве референсного был взят ген 18S рРНК. Также нами были проанализированы образцы тканей мозга, мышц и печени, взятые у 3-х особей каждого возраста. Уровни транскрипции выбранных генов определялись с помощью метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Статистическая достоверность различий полученных результатов оценивалась с помощью теста Манна-Уитни ($p > 0.05$).

Установлено, что в хрусталиках 4-х месячных и годовалых карпов экспрессируются, по крайней мере, 7 генов γ М-кристаллинов, а именно: γ -кристаллин N-A (GCNA), β -кристаллин подобный S (BCSL), γ -кристаллин M1 (GCM1), γ -кристаллин подобный M1 (GCM1L), 3 изоформы γ -кристаллина подобный M2 (GCM2L, GCM2L2, GCM2L3).

В хрусталике 4-х месячного *Cyprinus carpio* было установлено статистически достоверное повышение уровней транскрипции генов GCM1, GCM1L, GCM2L, GCM2L2, GCM2L3, GCNA2 относительно уровня транскрипции гена β кристаллина BCSL. У карпов же годовалого возраста обнаружено существенное изменение уровней экспрессии генов γ М-кристаллинов во всех исследованных тканях относительно 4-месячных, что может рассматриваться как проявление онтогенетической динамики.

В тканях мозга, мышц и печени экспрессируются только 3 гена из группы исследованных: BCSL, GCNA2 и GCM2L2. Относительные уровни транскрипции этих генов в мозге и мышцах 4-х месячного карпа статистически не различимы, при том, что наиболее высокий уровень их транскрипции наблюдается в мозге. При этом анализ данных уровней транскрипции в мозге, мышцах и печени карпа в возрасте 1 года, свидетельствует о том, что ранее имевшие тенденцию к повышению уровни транскрипции всех генов в мозге теперь имеют схожие значения с уровнями транскрипции всех генов в печени и мышцах.

Таким образом, можно заключить, что кристаллины GCM1, GCM1L, GCM2L, GCM2L3, являются специфическими белками хрусталика глаза *Cyprinus carpio* и могут быть использованы как маркеры при проведении функциональных и онтогенетических исследований его оптического аппарата.

1. Zhang H., Wu C., Singh M. et al. Optical coherence elastography of cold cataract in porcine lens // Journal of biomedical optics, 2019, vol. 24(3), pp. 1-7. doi: 10.1117/1.JBO.24.3.036004

2. Zhao H., Brown P.H., Magone M.T., Schuck P. The molecular refractive function of lens γ -crystallins // Journal of molecular biology, 2011, vol. 411(3), pp. 680-699. doi: 10.1016/j.jmb.2011.06.007

3. Kingsley C.N., Bierma J.C., Pham V., Martin R.W. γ S-crystallin proteins from the antarctic nototheniid toothfish: A model system for investigating differential resistance to chemical and thermal denaturation // The Journal of Physical Chemistry B, 2014, vol. 118(47), pp. 13544-13553. doi: 10.1021/jp509134d

РИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОЗГА ВО ВРЕМЯ АКТИВНОГО И ПАССИВНОГО ВОСПРИЯТИЯ

Brain rhythmic activity during active and passive perception

Каримова Е.Д., Орехова Д.Д.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ, dorekhova22@gmail.com

В настоящее время все более популярным видом отдыха становится восприятие информации с помощью различных гаджетов: смартфонов, ноутбуков, телефонов. Быстрый ритм жизни современного человека

приводит к тому, что сейчас многим не хватает времени на традиционный вид отдыха в лесу или на природе. В связи с этим нельзя преуменьшать важность вопроса о воздействии просмотра медиа-контента на нервную систему человека.

В данном пилотном исследовании моделировались ситуации, когда человек расслабляется, глядя на природу, или просматривая различные видеоролики. Соответственно, дизайн эксперимента предполагал 2 сессии с каждым испытуемым, была проанализирована ритмическая активность головного мозга 16 испытуемых (7 муж., 9 жен, возраст 21-25 лет). Данные сессии включали в себя в одном случае просмотр видеороликов, содержащих и не содержащих информационный контент. Длительность видеоролика составляла 30 мин. Регистрацию ЭЭГ проводили в спокойном состоянии в течении 1 мин с открытыми и закрытыми глазами до и после сессии с помощью энцефалографа-анализатора “Нейровизор” с 17 электродами (O1, O2, P3, P4, Pz, C3, C4, Cz, F3, F4, Fz, F7, F8, T3, T4, T5, T6), расположенными по системе “10-20”, монополярно относительно объединенных ушных электродов A1 и A2. При этом для предобработки данных был использован метод независимых компонент и фильтрация, для анализа такие методы как преобразование Гилберта, ИТС, ERSP, суммарная электрическая активность мозга относительно начала стимуляции.

Оказалось, что результаты анализа сильно различаются для активной и пассивной сессий. Было получено, что нейронные сети работали синхронно в тета-диапазоне пассивной сессии: сигнал имеет более высокий уровень когерентности. Для бета-ритма обеих сессий, наоборот, такой синхронности не наблюдается. По результатам ERSP анализа можно сказать, что в активной сессии на протяжении всей записи преобладают бета-ритмы, а во второй половине сессии увеличивается мощность тета-ритма. В пассивной сессии амплитуда сигнала меньше, преобладают альфа и бета ритмы, причём мощность альфа-активности повышается вначале сессии, а бета-ритма – во второй половине. Повышение мощности тета- и бета-ритмов в активной сессии может указывать на повышение активности корковых системы с одной стороны, и на эмоциональное напряжение, концентрацию внимания, когнитивную активность с другой. Повышение альфа- и бета-ритмов в большей степени соответствует состоянию расслабления и отдыха сенсорных систем. Также можно сделать несколько выводов о реакции нервной системы, а также об адекватности применения различных методов обработки для анализа длинных записей электроэнцефалограммы.

По результатам ERSP и ИТС анализа можно сказать, что отдых в лесу и восприятие звуков природы положительно влияет на нервную систему и способствует ее восстановлению в отличие от просмотра медиа-контента в свободное время. По топограмме суммарной электрической активности можно сделать вывод о том, что значительное различие между сессиями наблюдается на электродах F4, Cz, P3, T5, O1 (уровень значимости $p \leq 0,1$). Кроме того, во время активной сессии полушария мозга работают асинхронно и потенциал относительно начальной эпохи в них сильно отличается, однако во время пассивной сессии все наоборот и полушария работают синхронно, не происходит сильных отклонений относительно начальной эпохи. Преобразование Гилберта очень чувствительно к наличию артефактов, так как основано на выделении огибающей сигнала. В связи с этим его не рекомендуется применять к необработанным записям или же если артефакты не до конца удалены. Метода ICA недостаточно для первичной предобработки длинной записи ЭЭГ, потому что во время записи могут возникать сильные помехи, связанные с движением (нельзя сидеть полностью неподвижно в течение 26 минут), которые ICA не может убрать. В связи с этим приходится применять и другие методы обработки. Фильтрация помогает избавиться от некоторых артефактов. В процессе работы было выяснено, что при наличии первичной фильтрации программа лучше разделяет сигнал на независимые компоненты и тем самым предобработка получается точнее.

СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ ПЛОТНЫХ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ Absorption Spectra of Dense Microalgae Cultures

Клочкова В.С.¹, Лелеков А.С.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, viki-iki@mail.ru

² ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»,
г. Севастополь, РФ, a.lelekov@yandex.ru

Спектральный анализ культур фотоавтотрофов предполагает получение информации как о поглощении света различными пигментами, так и о характеристиках рассеяния [1]. Во многих работах основное внимание уделяется именно поглощению света, по которому оценивают изменение концентрации пигментов, соотношения между ними. Клетки микроорганизмов обладают неселективным рассеянием, которое зависит от их размера, формы и является результатом изменения показателя преломления на межфазных границах (например, между средой, клеткой, цитозолем и внутриклеточными структурами). У цианобактерий и микроводорослей спектры поглощения также характеризуются наличием селективного рассеяния, которое обусловлено резкими изменениями показателя преломления агрегированными пигментами на мембранах тилакоидов [2].

Для уменьшения вклада рассеяния используются спектрофотометры с интегрирующей сферой (ИС), которые позволяют получить истинные спектры поглощения культуры микроводорослей, которые

характеризуются нулевым поглощением за границей ФАР [3]. Спектрофотометры без ИС не позволяют получить достоверных результатов измерений спектральных свойств клеток из-за огромных ошибок, обусловленных рассеянием света. Также, отметим, что спектрофотометры с прямым пучком (источник света, образец и детекторный диод на одной линии) не позволяют количественно измерить рассеянный свет. Кроме того, фактическое количество рассеянного света очень сильно зависит от геометрии кюветы и детектора в конкретном спектрофотометре, а также от размещения кюветы. В приборах с ИС кюветы могут располагаться рядом с входным окном ИС или внутри самой ИС [4]. Однако в первом случае при сильно рассеивающих образцах не удаётся полностью нивелировать влияние рассеяния, т. к. часть лучей преломляется и не попадает в сферу.

Цель работы: определить количественные различия между спектрами поглощения плотных культур микроводорослей, полученных на спектрофотометре с и без ИС.

Работа выполнялась на базе кафедры «Физика» СевГУ. Объектами исследования являлись: красная микроводоросль *Porphyridium purpureum*, цианобактерия *Arthrospira (Spirulina) platensis*, диатомовая морская водоросль *Phaeodactylum tricorutum*, зелёная галофильная водоросль *Dunaliella salina*, полученные из коллекции из ЦКП "Коллекция гидробионтов Мирового океана" ФИЦ ИнБЮМ. Выращивание проводилось в колбах объёмом 250 мл с использованием люминесцентных лампах TDM Electric. Средняя освещённость рабочей поверхности составляла 5 клк. Температура культур поддерживалась на уровне $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Спектры поглощения регистрировались в диапазоне от 400 до 800 нм на двухлучевых спектрофотометрах: UNICO-4802 и Lambda 365 Double Beam UV-Visible, который оснащён ИС диаметром 60 мм, покрытая BaSO_4 . 1 см кварцевые кюветы помещали перед входным окном ИС. Спектры фиксировались относительно дистиллированной воды.

Экспериментально установлено, что спектры поглощения для всех объектов исследования, записанные на Unico, примерно в 2 раза выше и имеют менее выраженные пики фотосинтетических пигментов. Спектры культур, записанные на Lambda, характеризуются наличием ненулевых значений в диапазоне 750–800 нм. Это свидетельствует о рассеянии света, которое обусловлено тем, что конструкция прибора подразумевает установку кюветы перед ИС. Отметим, что величина рассеяния зависела от формы клеток микроводорослей, максимальные значения были отмечены для культуры *A. platensis*. Показано, что при разбавлении образцов наблюдается приближение спектров поглощения к "истинному" [4], т. е. в области 750–800 нм величина оптической плотности близка к нулю. Были рассчитаны отношения нормированных спектров поглощения Unico/Lambda. Для различных плотностей культуры. Это отношение оставалось постоянным, но для разных видов оно изменялось. Таким образом, отношение Unico/Lambda может быть использовано для получения истинных спектров поглощения.

1. Latimer P., Rabinowitch E. Selective scattering of light by pigments *in vivo* // Arch. Biochem. Biophys., 1959, vol. 84, pp. 428-441. doi: 10.1016/0003-9861(59)90605-8

2. Мерзляк М.Н., Чивкунова О.Б., Маслова И.П., Накви Р.К., Соловченко А.Е., Клячко-Гурвич Г.Л. Спектры поглощения и рассеяния света клеточными суспензиями некоторых цианобактерий и микроводорослей // Физиология растений, 2008, т. 55, № 3, с. 464-470.

3. Ritchie R.J., Sma-Air S. Using integrating sphere spectrophotometry in unicellular algal research // J. Appl. Phycol., 2020, vol. 32, no. 5, pp. 2947-2958. doi: 10.1007/s10811-020-02232-y

4. 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* // J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 2000, vol. 58, pp. 123-129. doi: 10.1016/S1011-1344(00)00114-7

ВЛИЯНИЕ γ -ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЛЮЦИГЕНИН ЗАВИСИМУЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ И ДЫХАНИЕ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ

Influence of γ -rays on lucygenin-dependent chemiluminescence and breathing of yeast cells

Кочарли Н.К., Гумматова С.Т.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, sam_bio@mail.ru

К настоящему времени в мире существует много информации, касающейся общих закономерностей проявления адаптивной реакции у микроорганизмов, перевиваемых клеточных культур, клеток крови, организмов животных и растений. Ионизирующее излучение вызывает повреждение и гибель клеток вследствие как прямого воздействия на структуру ДНК и белков, так и вследствие генерации АФК [2].

Существуют различные способы оценки образования АФК. Одним из наиболее чувствительных является хемилюминесцентный метод, особенно после открытия активаторов хемилюминесценции (ХЛ), из которых наиболее широко используются люминол и люцигенин. Известно, что существует химическая специфичность активаторов: люминол вступает в реакцию с АФК образующими различными ферментами, а люцигенин - только с супероксидным анион-радикалом. Метод ХЛ обладает тем преимуществом что, во-первых, методом ХЛ непосредственно определяется не концентрация радикалов, а скорость реакции, в которой они образуются [1]. Таким образом, целью данного исследования явилась оценка люцигенинзависимой хемилюминесценции (Люц

ХЛ) и дыхания клеток дрожжей *Candida guilliermondii* после воздействия различными дозами гамма лучей (5-100 Гр). Дрожжевые клетки – удобный и хорошо изученный объект для исследования влияния ионизирующего излучения. Для определения ЛюцХЛ суспензию клеток помещали в кювету хемилюминометра, добавляли необходимое количество буфера, люцигенин и регистрировали ХЛ. Время записи кинетики варьировало от 12 до 15 минут в разных опытах. Люцигенин добавляли в конечной концентрации 0,1 мМ. Добавление люцигенина в суспензию клеток приводило к увеличению интенсивности ХЛ. С ростом дозы облучения интенсивность ХЛ увеличивалась по сравнению с контролем. Увеличение интенсивности ХЛ достигала максимума примерно через 3 минуты, а затем медленно снижалась. Изучение параметров ЛюцХЛ облученных клеток дрожжей позволило обнаружить усиление реакции образования АФК, по сравнению с контрольными клетками, что свидетельствует о усилении скорости образования супероксидного анион радикала (O₂⁻) и таким образом высокой активности NADPH-оксидазы. Известно, что формирование супероксидных радикалов связано с мембранной NADPH-оксидазой. Было обнаружено, что в клетках дрожжей НАДФН-ферментный комплекс является одной из важных мишеней при действии γ -лучей.

Инактивирующее действие гамма лучей может быть связано ингибированием дыхания клеток дрожжей. В настоящей работе методом полярографии изучено влияние различных доз γ -лучей на дыхание клеток дрожжей. Контролем служила необлученная суспензия клеток. Установлено что интенсивность дыхания клеток дрожжей зависит от дозы γ -лучей. Полярографические кривые поглощения кислорода клетками *C.guilliermondii* показывают, что в результате облучения клеток малыми дозами (5-25 Гр) наблюдается незначительное ингибирование дыхания. Исследование действия высоких доз (75-100 Гр) показало, что они в значительной степени ингибируют дыхание клеток дрожжей *C.guilliermondi* и эти данные совпадают с данными при изучении влияния этих доз на выживаемость клеток дрожжей. Полученные данные позволяют сделать вывод о наличии отличий реакции клеток к действию малых и высоких доз гамма излучения.

1. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии, 2009, т. 49, с. 341-388.
2. Dutta K. Exposure to low dose of gamma radiation enhances the excision repair in *Saccharomyces cerevisiae* / K. Dutta, N. Verma // J. Gen. Appl. Microbiol., 1998, vol. 44, pp. 243-249.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВЫХ И ПОЛОВО-ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОЛОС МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА

Determination of Species and Sex-Age Features in the Hair from Small Cattle

Олешкевич А.А., Комарова С.А.

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина,
г. Москва, РФ, Black_panter27@mail.ru

На данный момент основным методом экспертизы волос животных является микроскопия в проходящем свете. Однако данный метод имеет определенные недостатки, связанные с квалификацией эксперта и схожестью клеточного строения волос у некоторых видов животных. В связи необходимостью определения видовой принадлежности пуха, шерсти и волос во избежании фальсификации важным моментом является разработка методики на основе биофизических методов, которая позволит минимизировать человеческий фактор [1, 2].

В ходе проведенного исследования разработана лабораторная установка для определения окислительно-восстановительного потенциала щелочного гидролизата пуха, шерсти и волос животных. Изменение под воздействием вспышки видимого света окислительно-восстановительного потенциала испытуемого раствора связано с наличием в составе кератинов волос серосодержащих аминокислот. Причем после дальнейшей инкубации гидролизатов в темноте значение окислительно-восстановительного потенциала возвращается к первоначальному значению.

Работа выполнена с использованием образцов пуха, шерсти и волос коз и овец, взятых с шеи и холки животных разного возраста и пола. В ходе проведенного исследования было выявлено, что изменение окислительно-восстановительного потенциала (Е, мВ) зависит от вида животного, но не имеет достоверных различий у разных половозрастных групп одного вида животных.

Таблица 1. Значения окислительно-восстановительных потенциалов волос коз и овец

Вид животного	Е ₁ , мВ	Е ₂ , мВ	Е ₃ , мВ	(Е ₁ -Е ₀), мВ
Овца самцы, самки, детёныши по 15 особей	68,5-70,5	61-63	68,5-70,5	-7,5 ± 0,5
Козы: самцы, самки, детёныши по 15 особей	98,5-70,5	91-93	98,5-100,5	-7,5 ± 0,5

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что зависимость изменения окислительно-восстановительного потенциала можно использовать в экспертизе для определения видовой принадлежности волос животных.

1. Белик Н.И. Тонина шерсти и её связь с другими хозяйственно полезными и морфологическими признаками овец: дисс. ... д-ра с.-х. наук: 06.02.10: защищена 25.12.13, 2013, 305 с.

2. Чернова О.Ф. Архитектоника и диагностическое значение коры и сердцевины волос. М.: Известия РАН, 2004, С. 73-83.

РЕШЕНИЕ ОБРАТНОЙ ЗАДАЧИ ЭЭГ И ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА МОЩНОСТИ В ЗАДАЧЕ АНАЛИЗА РИТМОВ ПОКОЯ

Solving the Inverse EEG Problem and Integral Power Estimation in the Resting Rhythm Analysis Problem

Охрименко Г.С., Каримова Е.Д.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, galina-oxp@mail.ru

В настоящее время общество тратит много времени на просмотр или прослушивание развлекательного медиа материала (подкасты, ютуб, тикток, аудиокниги), что не может не сказаться на функциональном состоянии человеческого головного мозга. Психологи и нейрофизиологи отмечают важность состояния спокойного бодрствования и пребывания в нём – в этот момент активно работают сети покоя (Resting State Network). В связи с этим крайне важно исследовать влияние длительного просмотра медиаконтента на функциональное состояние головного мозга в состоянии покоя.

В исследовании принимали участие 16 человек: 9 женщин и 7 мужчин, возрастом 21-25 лет. С каждым участником проводилось по два эксперимента в разные дни: просмотр развлекательного медиа материала в одном случае (активная сессия) и просмотр видеоролика с изображением природы без информационной нагрузки (пассивная сессия) в другом. Длительность видеоролика составляла 30 мин. Регистрацию ЭЭГ проводили в спокойном состоянии в течении 1 мин с открытыми и закрытыми глазами до и после сессии с помощью энцефалографа-анализатора “Нейровизор” с 17 электродами (O1, O2, P3, P4, Pz, C3, C4, Cz, F3, F4, Fz, F7, F8, T3, T4, T5, T6), расположенными по системе “10-20”, монополярно относительно объединенных ушных электродов A1 и A2.

При анализе записей ЭЭГ была решена обратная задача ЭЭГ и определена локализация источников активности ритмов покоя (альфа-, бета1-, бета2, тета- ритмов) в приближении распределенных источников с помощью метода LORETA. После чего было произведено повоксельное вычитание интенсивности после просмотра и до просмотра видеоролика. Затем данная разницы усреднялась по всем испытуемым, что позволило сделать вывод об изменении интенсивности источников после воздействия для каждого ритма покоя в случае открытых и закрытых глаз после активной и пассивной сессии.

В результате спектрального анализа были получены значения амплитуд спектральной мощности в полосах частот (4–8 Гц), альфа (8–13 Гц), бета-1 (13– 24 Гц), и бета-2 (24–35 Гц) ритмов по каждому из 17 отведений. После чего усреднены по всем отведениям. Статистический анализ (расчет Т-критерия Уилкоксона) проводился с помощью MS Excel.

После активного восприятия информационного наполненного контента интенсивность альфа-ритма повышалась, а после пассивного созерцания природы – снижалась. Наблюдалась разнонаправленная динамика в двух сессиях в бета1 и бета2 диапазонах частот. Распределение и динамика тета-ритма не отличались после активной и пассивной сессии.

Проведение статического анализа позволило получить следующие результаты: наблюдалось повышение мощности альфа-ритма после активной сессии с открытыми и закрытыми глазами, а также повышение мощности бета1-ритма после активной сессии в пробе с открытыми глазами.

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод о том, что состояние после активной сессии может свидетельствовать о перевозбуждении, невозможности расслабиться. Такая ЭЭГ часто возникает при тревожных. Состояние после пассивной сессии характеризуется снижением активности альфа-генераторов, повышением активности источников тета- и бета-ритмов при закрытых глазах и понижением их активности при открытых глазах. Данные результаты нуждаются в дальнейших подтверждениях на более объёмной выборке и последующей интерпретации.

О ВОЗМОЖНОЙ ВНЕШНЕЙ ОБУСЛОВЛЕННОСТИ СПЕКТРА ОКОЛОЧАСОВЫХ ПЕРИОДОВ

On Possible External Nature of Circadian Periods Spectra

Панчелюга В.А., Панчелюга М.С.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, victor.panchelyuga@gmail.com

В работе [1] был впервые представлен локальный фрактальный анализ шумоподобных временных рядов методом всех сочетаний (МВС). Одним из первых результатов МВС-анализа является исследование 329-суточного массива флуктуаций скорости α -распада, обнаружившее устойчивый набор периодов в диапазоне 1-120 мин [2]. Для указанного диапазона была показана не только тесная связь найденного спектра со спектром собственных колебаний Земли, но также его универсальный характер: спектры периодов, найденные для флуктуационных процессов в системах различной природы (физической, химической, биологической) всегда совпадали с соответствующей частью спектра, найденного для временных рядов флуктуаций скорости α -распада [2]. В силу указанного свойства найденного спектра [2] он, в дальнейшем, был назван универсальным спектром периодов (УСП).

Свойство универсальности, впервые отмеченное в [2], было подтверждено дальнейшими исследованиями, в частности, в ходе изучения спектров во временных рядах флуктуаций хемилюминесценции планарий [3], а также флуктуаций температуры мелких млекопитающих и птиц [4,5] в т.ч., с разным уровнем основного обмена [5]. Было показано, что спектры периодов, найденные в [3] (с использованием МВС-метода [1]), а также в [4,5] (с использованием спектрального анализа, а также кросскорреляционного анализа различных масштабов во временных рядах пространственно-разнесенных измерений), совпадают с УСП.

При этом, УСП в флуктуациях температуры тем лучше выражен, чем больше изолированы друг от друга изучаемые группы животных. Условие изолированности (и, соответственно, выраженности УСП) лучше всего выполняется в случае пространственно-разнесенных измерений, когда исследуемые группы разнесены на расстояния от сотен метров до единиц километров и более. Данный результат, на наш взгляд, говорит о внешней природе агента, обуславливающего УСП в флуктуациях температуры экспериментальных животных [4,5], а также о его биотропной природе. Очевидно, что на внешнюю природу предполагаемого агента указывает также универсальность УСП: одни и те же периоды наблюдаются как в случае флуктуаций в физической системе [2] так и в биологических системах [3-5].

Околочасовые ритмы (ОР) – набор периодов в диапазоне 20–120 мин, были выявлены в динамике многих биологических систем: размерах клеточного ядра, интенсивности синтеза белка, активности ферментов, концентрации гормонов и АТФ, потребления кислорода, рН цитоплазмы и др. [6-8]. Они обнаружены у бактерий, дрожжей, некоторых других одноклеточных, моллюсков, в клетках млекопитающих. Эти ритмы выявляются как *in vivo* так и *in vitro* [6-7]. Несмотря на то, что большинство авторов рассматривают ОР только как результат внутренних регуляторных процессов организма или межклеточных взаимодействий, вопрос о природе ОР и возможном ОР-синхронизаторе остается открытым.

Исследование многочисленных литературных источников (в качестве примера можно привести сборник обзорных работ [8]) позволило выявить максимально полный набор периодов, которые различные авторы относят к ОР. Сравнение данного набора с УСП показало их хорошее совпадение. Этот результат позволяет рассматривать ОР, по аналогии с УСП, не как набор независимых периодов, а как проявления некоторого единого спектра. При этом, внешний биотропный агент, обуславливающий наличие УСП в динамике флуктуаций параметров биосистем [2-5], может рассматриваться как внешний синхронизатор ОР-спектра.

Необходимо отметить, что представление о внешнем ОР-синхронизаторе, в действительности, не противоречит бытующим представлениям о «внутренней» природе ОР, т.к., перечисленные выше биологические системы в динамике которых выявлены ОР [6-8], могут рассматриваться как автоколебательные с частотами, близкими к частотам ОР-спектра. Как известно, именно автоколебательный характер систем является необходимым условием их синхронизации.

Т.к., ряд биологически значимых периодов лежит за пределами спектра 1-120 мин, то в докладе будут приведены также результаты дальнейших исследований УСП в диапазоне 120-300мин.

1. Панчелюга В.А., Панчелюга М.С. // Биофизика, 2013, т. 58, вып. 2, с. 377-384.
2. Панчелюга В.А., Панчелюга М.С. // Биофизика, 2015, т. 60, вып. 2, с. 395-410.
3. Panchelyuga V.A., Tiras Kh.P., Novikov K.N. et al. // CEUR Workshop Proceedings, vol. 2763, pp. 61-63.
4. Диатроптов М.Е., Панчелюга В.А., Панчелюга М.С. // Бюлл. эксп. биол. и мед., 2020, т. 169, № 6, с. 706-711.
5. Диатроптов М.Е., Панчелюга В.А. и др. // Доклады РАН. Науки о жизни, 2020, т. 494, № 1, с. 472-476.
6. Бродский В.Я. // Изв. АН. Сер. Биологическая, 1998, № 3, с. 316-329.
7. Бродский В.Я. // Биохимия, 2014, т. 79, № 6, с. 619-632.
8. Ultradian rhythms in life processes / D. Lloyd, E.L. Rossi (Eds.) Springer-Verlag, 1992, 419 p.
9. Пиковский А., Розенблюм М., Куртс Ю. Синхронизация. М., Техносфера, 2003, 508 с.

ТЕСТИРОВАНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ ПОСЛЕ ЭКСПОЗИЦИИ ЖИВЫХ ОБЪЕКТОВ В ОЗОНЕ

Testing for Biogenic Amines by Fluorescent Method after Exposition of Living Objects to Ozone

Рощина В.В.¹, Сергиевич Л.А.¹, Джалалян Л.А.²

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пушино, РФ

² ООО "Орион-Си", г. Москва, РФ, roshchinavic@mail.ru

Электрические озонаторы используются для физиотерапии и очистки воздуха в помещениях, применяя высокие дозы озона. Поскольку озон в высоких концентрациях может увеличивать содержание стрессовых биогенных аминов в клетках этот вопрос заслуживает внимания как медиков, так и биофизиков растений. Практика использования озона в физиотерапии и дезинфекции помещений требует иметь тесты, по которым присутствие биогенных аминов можно определять флуоресцентным гистохимическим методом в клетках и тканях. В связи с этим, целью данной работы является изучение этим методом образования биогенных аминов в модельных системах крови мышей, пыльце и железах комнатных растений под влиянием озона, вырабатываемого медицинским озонатором Орион-Си в помещениях.

В работе предпринято испытание шести физиотерапевтических режимов озона (дозы 11, 22, 33, 55, 77, 100 мг/м³) в пластиковой камере типа "Нога" на образование стрессовых биогенных аминов в модельных системах – крови мышей, пыльце сенполии *Saintpaulia ionantha* Wendl. (fam. Gesneriaceae) и масляных железах однолетних проростков эвкалипта пепельного *Eucalyptus cinerea* F. Muell ex. Benth (fam. Myrtaceae). Максимальная продолжительность экспозиции мышей в клетке или целого растения в сосуде в озоне составляла 10 или 20 мин. Отбор образцов крови мышей производили из хвостовой вены, и наблюдали за поведением животных после экспозиции в озоне. Образцы пыльцы и листья указанных выше растений собирали сразу после такой же экспозиции. Дофамин или гистамин исследовали с помощью обработки клеток гликоксилевой кислотой или орто-фталевым альдегидом, соответственно, и высушивании образцов при 50-70° С [1, 2]. В результате возбуждения ультрафиолетовым светом 360-380 нм флуоресцирующие продукты реакции (в зависимости от концентрации аминов- низкой до 10⁻⁶ М, средней 10⁻⁵ -10⁻⁴ М и высокой 10⁻³ М и более) вызывают голубое, зеленое или желтое свечение клеток. Образцы анализировали под люминесцентным микроскопом Carl Zeiss A-10 Axio Imager и регистрировали их флуоресценцию спектрофлуориметром Perkin-Elmer 350 MPF-44B (UK) при 460-470 нм.

Как показали наши опыты, заметное количество обоих биогенных аминов в мазках крови мышей и масляных железах эвкалипта регистрируется только после экспозиции в шестом режиме озонатора в общей дозе 100 мг/м³. Этот режим обычно используется для лечения сосудистых заболеваний конечности как максимальный. Увеличение продолжительности озонирования до 20 мин и более приводило к резкому росту образования дофамина у самцов и гистамина у самок в 2-2,5 раза, что указывает на стресс. Более чувствительной оказалась реакция растительных образцов. Содержание дофамина у пыльцы сенполии повысилось в 4 раза по сравнению с контролем уже после экспозиции озона в первом режиме, затем последовательно снижалось почти до 50% от контроля. Количество гистамина в этих же образцах по сравнению с контролем последовательно увеличивалось после первого режима озонирования в дозе 11 мг/м³ (увеличение почти на 30%) до 125-150 процентов во всех остальных режимах. У масляных желез гистамин обнаруживался после озонирования в третьем режиме (33 мг/м³), и после экспозиции в 6 режиме его концентрация возрастала (до 10⁻³ М, желтая эмиссия).

Судя по флуоресценции образцов, значительная часть биогенных аминов концентрируется в отдельных элементах крови мышей. В пыльце сенполии голубая эмиссия после окрашивания на дофамин или гистамин хорошо видна в ядре и в секрете из клетки. Гистохимическая реакция на дофамин в масляных железах эвкалипта проявляется только в клетках обкладки многоклеточной железы, тогда как флуоресценция после окраски на гистамин видна во всех клетках этой секреторной структуры.

Показательно, что как мыши, так и целые растения продолжали нормально развиваться после озонирования даже самой большой дозой озона. У мышей уровень биогенных аминов в крови восстанавливался до контрольного значения через несколько дней после опыта. Следовательно, можно сделать вывод, что применение озонатора при 10 минутной экспозиции не оказывает губительного влияния на живые клетки и стрессовое образование биогенных аминов может быть обратимой реакцией. В отличие от клеток млекопитающих и многоклеточных масляных желез эвкалипта, накопление биогенных аминов у пыльцы при низких концентрациях О₃ может быть индикатором озона в воздухе закрытого помещения.

1. Markova L.N, Buznikov G.A, Kovačević N, et al. Histochemical study of biogenic monoamines in early (Prenevous) and late embryos of sea urchins // Int. J. Dev. Neurosci., 1985, vol. 3, no.5, pp.493-499.

2. Cross S.A.M, Even S.W.B, Rost F.W.D. A study of the methods available for the cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde // Histochem J., 1971, vol. 3, no. 6, pp. 471-476.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И СТАТИСТИЧЕСКОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ
РЕЗОНАНСНОЙ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА В ГЕНОМНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ**
Molecular Mechanisms and Statistical Evidence of Resonant Signal Transmission in Genomic Sequences

Савельев И.В., Мякишев М.В.

LLC Localized Therapeutics, Сан-Диего, США, *savella.417@yandex.ru, max.rempel2@gmail.com*

Концепция морфогенного поля отвечающего за развитие организма была предложена Гурвичем А.Г. в 1922 году. Им же экспериментально было доказано существование митогенетического излучения. Идея о в ключевой роли геномной ДНК в формировании морфогенного поля была предложена Миллером Р.А. и соавтором в 73-ом году. Многими исследованиями экспериментально подтверждено, что ДНК является хорошим изолированным проводником. Бурлаковым А.Б. и соавторами экспериментально показано, что манипуляция морфогенным полем вызывает радикальные изменения в эмбриональном развитии позвоночных. Многие исследователи экспериментально продемонстрировали наличие удалённых сигнальных взаимодействий между клетками и организмами не опосредованных химической передачей сигналов. Левиным М. показана важность электрической передачи сигнала в биологическом развитии. Несмотря на вышеперечисленные успехи в области изучения морфогенного поля, роль резонансов ДНК в развитии и поддержании формы организмов не доказана. Роль резонансной передачи сигнала в работе генома изучалась методами структурной биологии и вычислительной геномики.

Авторы предположили, что сиквенс-специфический резонанс между фрагментами ДНК используется организмами для передачи сигнала в геноме, регуляции структуры хроматина и экспрессии генов [1]. В поисках механизмов возможной передачи сигнала геномными последовательностями авторы обратились к идее химического резонанса и молекулярных орбиталей. Был проведен обзор возможных резонансных структур размером 2-800 нуклеотидов. Сфокусировали внимание на колебаниях электронов и протонов внутри двойной цепи ДНК, которые не приводят к существенным перемещениям ядер крупных атомов. Были предложены модели электронных и протонных колебаний в структурах 1-2 витка ДНК, а также тетра-нуклеосомных структуры с мономером ~750 нуклеотидов [2]. Полученные модели позволили авторам разработать упрощающие алгоритмы перекодировки последовательностей ДНК. Авторы предположили, что резонирующие участки ДНК будут отличаться повышенной консервативностью в геноме, что геном будет обогащен подобными повторяющимися последовательностями. Авторы предположили, что большая часть последовательностей, находящихся в резонансе друг с другом будут иметь одинаковую последовательность и, таким образом будут относиться к классу геномных повторов, имеющих различные первичные структуры, но обладающими идентичными особенностями пространственной структуры. Подобные последовательности ДНК, различающиеся первичной структурой, но обладающие общими особенностями пространственной структуры назвали Хайдерами (от HIDER – homologous if decoded elements, repetitive).

Поиск Хайдеров был проведен методами вычислительной геномики. Найденные варианты хайдеров были систематизированы и классифицированы. Рассматривались такие отличия как: количество колец (пурины/пиримидины) и количество водородных связей в паре оснований (сильный/слабый). Особое внимание уделялось отличиям структур, охватывающим более чем одну пару оснований. Предположительно ряд последовательно расположенных пуринов, объединяется в единую резонансную структуру и прерывается внедрением пиримидинов. Также было предложено участие в резонансах продольных водородных связей. Было предположено что последовательности, соединенные продольными водородными связями образуют единые резонаторы и что прерывания водородных связей определяет длину резонатора. Код был формализован и назван Гидрокодом. Особенностью Гидрокода является то, что он учитывает водородные связи между последовательно стоящими основаниями и таким образом определяется динуклеотидами. Для проверки были выбраны участки длиной $5 \cdot 10^5$ оснований из различных хромосом геномов человека, мыши, дрозофилы, арабидопсиса и дельфина. Участки были перекодированы, найдены хайдеры, обчислены и охарактеризованы. Были посчитаны частоты Хайдеров длинее 19 п.о. для пуринового, сильного и гидро-кодов, и обнаружено, что они существенно обогащены в выбранных геномах ($P < 0,001$) по сравнению с рандомизированными последовательностями; и законсервированы в эволюции ($P < 0,001$). Обнаружено, что свойства хайдеров существенно различаются между далеко отстоящими видами. Таким образом, геномный анализ подтвердил правильность предложенных резонансных структур ДНК.

Дальнейшее развитие этого направления открывает возможности для механистического объяснения функции нетранскрибируемых последовательностей в геномах и расшифровки роли резонансов ДНК в морфогенезе.

1. Savelyev I.V. et al. On The Existence of The DNA Resonance Code // Neuroquantology, 2019, vol. 17.
2. Poleskaya O. et al. DNA electrostatics in chromatin // Prog. Biophys. Mol. Biol., 2018, vol. 134, pp. 50-54.

**КАЛЬЦИЕВЫЙ КОМПОНЕНТ ФОТОТРАНСДУКЦИИ В МИКРОВИЛЛЯРНЫХ
ФОТОРЕЦЕПТОРАХ *LYMNAEA STAGNALIS***
Calcium Component of Phototransduction in Microvillary Photoreceptors of *Lymnaea stagnalis*.

Сафонов М.В., Жуков В.В, Башлов В.

Балтийский федеральный университет им. И.Канта, г. Калининград, РФ, *panda.saf.2008es@mail.ru*

Основные этапы и молекулярные компоненты преобразования светового сигнала в микровиллярных (рабдомерных) фоторецепторах детально исследованы в глазу *Drosophila*. Поглощение кванта зрительным пигментом ведет к диссоциации субъединиц связанного с ним G-белка, последующей активации фосфолипазы C и образованию инозитол-1,4,5-трифосфата (ИФ3) и диацилглицерола. ИФ3 способствует высвобождению в цитоплазму Ca^{2+} из внутриклеточных депо, что ведет к открытию катионных TRP-каналов и деполяризации мембраны фоторецептора [1]. Обобщению этой схемы препятствует слабая изученность фототрансдукционных процессов в микровиллярных фоторецепторах глаз других многочисленных таксонов беспозвоночных животных. В частности, брюхоногие моллюски – самый крупный по числу видов таксон типа мягкотелых – остается в этом отношении практически не изученным, что, безусловно, ограничивает возможности анализа путей филогенеза световой чувствительности.

Представляемые результаты получены в экспериментах на брюхоногом моллюске *Lymnaea stagnalis* – популярном объекте нейробиологии. Сетчатка глаза этого моллюска содержит фоторецепторы только микровиллярного типа [2], а предварительные фармакологические исследования показали, что фототрансдукция в ней проходит, вероятно, по инозитолфосфатному пути [3]. Для подкрепления такого предположения необходимо было установить роль в этом процессе ионов кальция. С этой целью было исследовано влияние удаления и иммобилизации Ca^{2+} , а также блокирования кальциевых каналов на электроретинограмму (ЭРГ) *L.stagnalis*. Эксперименты выполнены на препарате изолированного глаза моллюска с использованием применявшихся ранее технологий и алгоритмов [4]. Исследовали влияние на зависимость амплитуды медленной волны электроретинограммы (ЭРГ) от длительности световой вспышки следующих веществ: 1) 2-аминоэтилдифенил борат (2-АДБ, блокатор высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо); 2) Cd^{2+} (в форме раствора $CdCl_2$) как блокатор кальциевых каналов; 3) ЭГТА – хелатор 2-х валентных катионов. 2-АДБ и $CdCl_2$ вводили в основной физиологический раствор, а ЭГТА - в физиологический раствор, не содержащий Ca^{2+} . Эксперименты с применением каждого из веществ проводили не менее, чем в 10-ти повторностях, а статистическую достоверность наблюдаемых эффектов оценивали t-критерием Стьюдента, а также U-критерием Манна-Уитни.

Основные результаты:

- 1) удаление из раствора ионов кальция не оказывало статистически значимого влияния на амплитуду медленной волны ЭРГ и ее зависимость от длительности световой вспышки;
- 2) ионы кадмия в концентрации 1 мМ подавляли амплитуду ЭРГ в среднем на 75 - 80%;
- 3) 2-АДБ в концентрации 0,01 мМ подавлял амплитуду ЭРГ в среднем на 60%.
- 4) ЭГТА в концентрации 10 мМ подавлял амплитуду ЭРГ в среднем 80-90%

Выводы:

- 1) имеющихся в межклеточном пространстве и/или внутриклеточных компартментах ионов кальция достаточно для поддержания в течение длительного времени механизма фототрансдукции после удаления Ca^{2+} из основного объема раствора;
- 2) подавление ЭРГ после связывания свободного Ca^{2+} хелатором указывает на важную роль этого иона в механизме фототрансдукции;
- 3) подавление ЭРГ ионами Cd^{2+} указывает на кальциевые каналы как основной путь поступления Ca^{2+} в цитоплазму при фототрансдукции;
- 4) подавление ЭРГ введением в раствор 2-АДБ указывает на поступление Ca^{2+} в фоторецепторы через каналы, управляемые ИФ3, и таким образом, подтверждает предположение об инозитолфосфатном пути фототрансдукции в сетчатке *L.stagnalis*.

Работа Сафонова М.В. поддержана грантом БФУ по программе 5-100.

1. Fain G.L., Hardie R., Laughlin S.B. Phototransduction and the evolution of photoreceptors // *Current Biology*, 2010, vol. 20, R114-R124. doi: 10.1016/j.cub.2009.12.006
2. Bobkova M.V., Gal J., Zhukov V.V. et al. Variations in the retinal designs of pulmonate snails (Mollusca, Gastropoda): squaring phylogenetic background and ecophysiological needs (I) // *Invertebrate Biology*, 2004, vol. 123, pp. 101-115. doi: 10.1111/j.1744-7410.2004.tb00146.x
3. Zhukov V.V., Saphonov M.V. Activation of IP3 receptors is a component of phototransduction in gastropods retina // *Ж. эвол. биохим. физиол.*, 2020, т. 56, № 7, с. 811. doi: 10.31857/S0044452920072978
4. Zhukov, V.V., Fedorenko, A.D., Lavrova, A.I. et al. Electrical responses of *Lymnaea stagnalis* to light stimulation: Effect of divalent cations // *J. Evol. Biochem. Phys.*, 2017, vol. 53, pp. 404-413. doi: 10.1134/S0022093017050064

ТЕХНИКА ИССЛЕДОВАНИЯ СКОРОСТИ РОСТА РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВНЕШНЕГО ПОВЫШЕННОГО ДАВЛЕНИЯ

The Technique of the Plant Cells Growth Rate Study under Impact of Elevated External Pressure

Сулов М.А.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ Казанский научный центр РАН,
г. Казань, РФ, makscom87@mail.ru

Рост растений – сложный физиологический процесс, который часто является чувствительным индикатором воздействия окружающей среды [1]. Влияние абиотических факторов на ростовые процессы в растениях, таких как температура, влажность, освещение и т.д. привлекает внимание многих исследователей и является важным направлением биологических исследований [2-5], а изучение ростовых процессов в динамике и непосредственно под воздействием внешних факторов представляет особый интерес. Важную роль в процессе роста растяжением играет фактор давления [6]. В первую очередь это тургорное давление (гидростатическое давление внутри клеток), которое является механическим стимулом растяжения клеточной стенки и, соответственно, увеличения длины клеток [7]. Величина тургорного давления в клетках растений может достигать нескольких атмосфер. Предполагается, что кроме тургорного давления важным параметром в процессе роста клеток растяжением является внеклеточное давление в растительных тканях (апопластное давление). Экспериментальное подтверждение роли фактора давления в ходе роста клеток растяжением, очевидно, предполагает воздействие на исследуемый образец внешнего давления различной величины в пределах физиологических значений. Для реализации данной задачи в лабораторных условиях была разработана и изготовлена камера давления, позволяющая проводить непрерывное измерение скорости роста клеток в тканях растений непосредственно при воздействии внешним давлением до 1 МПа. Камера имеет цилиндрическую форму с диаметром основания 80 мм и высотой 35 мм. Корпус камеры изготовлен из алюминиевого сплава (Al-Cu-Mg). В нижнем и в верхнем основании камеры на резиновые прокладки устанавливаются съемные, прозрачные, кварцевые стёкла марки КУ-1. Таким образом, камера имеет прозрачное дно и верх. Для герметизации камеры стёкла снизу и сверху прижимаются с помощью винтов к основному корпусу камеры алюминиевыми дисками с круглыми центральными отверстиями. Данная конструкция позволяет измерять скорость роста отдельных клеток в тканях с помощью оптического микроскопа, оснащенного цифровой видеокамерой. Для этого через определённые временные интервалы происходит фотографирование клеток растительного образца при нормальном давлении (контроль), а затем при повышении внешнего давления в диапазоне от 0,1 до 1 МПа. Полученные изображения клеток обрабатываются с помощью программного обеспечения MacVioPhotomics ImageJ. Для вычисления скорости роста на первом полученном изображении выбирается некоторое количество хорошо просматриваемых клеток и вычисляются их исходные размеры. Далее производится сравнение со следующими изображениями, полученными при одном и том же разрешении, и определяется изменение размеров исходно выбранных клеток в ходе роста растяжением. С использование вышеприведённого технического и методического подхода было обнаружено, что повышение внешнего давления вызывает заметное увеличение длины клеток по сравнению с контролем (при нормальном атмосферном давлении), что свидетельствует об ускорении роста клеток растяжением. Стоит отметить, что данный эффект ускорения роста наблюдается практически сразу после повышения давления. При этом, воздействие давлением на клетки, прошедшие стадию роста растяжением, не вызывает увеличения прироста длины.

Таким образом, приведённый в данной работе оригинальный технический и методический подход позволяет исследовать ростовые процессы в растительных тканях при изменении внешнего давления. Представленную в работе камеру давления можно использовать для исследования роста не только отдельных клеток в тканях, но и целых небольших проростков растений.

Исследование проведено в рамках работы по гос. заданию для ФИЦ Казанского научного центра РАН.

1. Braidwood L., Breuer C., Sugimoto K. My body is a cage: mechanisms and modulation of plant cell growth // *New Phytologist*, 2014, vol. 201, pp. 388-402.
2. Nagel K.A., Schurr U., Walter A. Dynamics of root growth stimulation in *Nicotiana glauca* in increasing light intensity // *Plant. Cell Environ.*, 2006, vol. 29, no. 10, pp. 1936-1945.
3. Wraith J.M., Wright K.W. Soil water and root growth. *Hort Science*, 1998, vol. 33, pp. 951-959.
4. Madhu M., Hatfield J.L. Dynamics of Plant Root Growth under Increased Atmospheric Carbon Dioxide // *Agronomy Journal*, 2013, vol. 105, pp. 657-669.
5. Judd L.A., Jackson B.E., Fonteno W.C. Advancements in Root Growth Measurement Technologies and Observation Capabilities for Container-Grown Plants // *Plants*, 2015, vol. 4, pp. 369-392.
6. Christmann A., Grill E., Huang J. Hydraulic signals in long-distance signaling // *Current opinion in Plant Biology*, 2013, vol. 16, pp. 293-300.
7. Kroeger J.H., Zerkow R., Geitmann A. Regulator or driving force? The role of turgor pressure in oscillatory plant cell growth // *PLoS one*, 2011, vol. 6, no.4, e18549.

ЖИЗНЬ КАК КОСМИЧЕСКОЕ ЯВЛЕНИЕ. БИОФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ Life as a Cosmic Phenomenon. Biophysical Aspectss

Твердислов В.А.

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

100-летию нашего учителя выдающегося российского биофизика Льва Александровича Блюменфельда посвящается

Биофизика – наука о физических основах организации и функционирования живых систем, а также о физических принципах и механизмах совершения «полезной работы» (выполнения биологической функции) биологическими машинами. Естественным образом, биофизика своим предназначением вовлечена в решение главной научной проблемы, стоящей перед просвещенным человечеством, – проблемы естественного возникновения, единства принципов и разнообразия возможных форм Жизни во Вселенной, путей их эволюционного развития. Образно говоря, Человек и его разумные собратья на бесчисленных экзопланетах являются инструментом Вселенной в её самоосмыслении. В этом аспекте биофизика – одна из ключевых дисциплин понимания и решения этой задачи.

Подобно тому, как логика развития науки в 1800-1802 годах востребовала идею выделения из *физики, науки о природе в целом, науки о живом* – «био»«логию», сформулированную независимо друг от друга Фридрихом Бурдахомом, Жаном Батистом Ламарком, Готфридом Рейнхольдом Тревиранусом, также сама биология востребовала физику в конце 19-го века через науку *биофизику*, выясняющей механизмы функционирования живых систем (Герман Гельмгольц, Карл Пирсон). Цикл замкнулся. Вместе с тем биофизику как раздел естествознания нельзя считать вспомогательной частью биологии. Физика образует основу биологии: «живое» представляет собой удивительное сочетание «неживых» физических структур и закономерностей, составивших в процессе предбиологической и биологической эволюции удивительный мир живых существ.

Выдающиеся достижения естествознания последних десятилетий в конкретных областях наук о живых системах на всех уровнях организации живой материи от молекулярного до биосферного сделали необходимым для научного мира в очередной раз обратиться к обсуждению представлений о фундаментальных основах Жизни во Вселенной. В какие-то недавние годы тема происхождения Жизни представилась академическим организаторам науки отчуждённой от насущных задач практической биологии, однако современное состояние молекулярной биологии, физико-химической биологии, биохимии, медицинской физики настоятельно требует выяснения базовых основ возникновения и функционирования живых систем в процессе биологической эволюции. Подобно тому, как физика элементарных частиц предопределила развитие современных представлений о развитии Вселенной с момента Большого взрыва, новейшие биохимия и молекулярная биология предопределили необходимость нового физического осмысления фундаментальных основ единства структур и функций живого в динамике их возникновения и эволюции. Биофизика как теоретическая основа биологии призвана системно связать фундаментальные физические принципы развития материи, лежащие вне биологии, с механизмами биологического структурообразования в процессе обретения функций, составляющего существо биологической эволюции. Спектр наук о Жизни много шире, чем сама биология, предназначенная для изучения непосредственно живых систем. Жизнь во Вселенной характеризуется не столько широко известным химическим инструментарием родственной нам земной биосферы, сколько общими физическими принципами развития материи, системно составляющими основу универсальной биологической эволюции.

УФ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ГТФ ИНДУЦИРУЕТСЯ СВЯЗЫВАНИЕМ ИОНОВ ЦИНКА UV Fluorescence of GTP is induced by Zinc Ions Binding

Тевонян Л.Л.¹, Бениаминов А.Д.², Калюжный Д.Н.²

¹ Московский физико-технический институт (государственный университет), г. Москва, РФ

² Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, РФ

Собственная флуоресценция природных нуклеотидов ДНК очень слабая, а их оптические спектры излучения практически неразличимы (1). В связи с этим флуоресцентные свойства нуклеотидов никогда не рассматривалась как физическое свойство, которое можно было бы использовать для обнаружения и дифференциации азотистых оснований. В этой работе мы показываем, как образование комплексов ГТФ с ионами цинка значительно усиливает флуоресцентные свойства гуанина.

Исследована зависимость спектральных характеристик поглощения и флуоресценции ГТФ от концентрации ионов цинка в растворе. Методом флуоресцентной спектроскопии было показано, что при УФ

возбуждении ГТФ в трис-ацетатном буфере не флуоресцирует, однако при наличии ионов цинка (до 0.5мМ) в растворе наблюдается усиление флуоресценции с максимумом около 350нм. Данное усиление флуоресценции может быть связано с изменением электронной структуры нуклеотида при образовании комплекса с катионом. При связывании ионов с ГТФ наблюдается изменение спектра поглощения нуклеотида, что так же отражает образование комплекса. Характеристика данного комплекса методом кругового дихроизма показывает образование хиральной структуры, которая может характеризоваться связыванием нескольких нуклеотидов с одним ионом цинка. При увеличении концентрации цинка более 0.5 мМ наблюдается изменение положения максимума флуоресценции. При концентрации 3 мМ максимум флуоресценции сдвигается в 400нм. Такое изменение спектров флуоресценции может быть связано с переходом мультимерных комплексов ГТФ с цинком в мономерное связывание, что характеризуется уменьшением сигнала кругового дихроизма с сохранением поглощения нуклеотида. На основании полученных данных построена модель взаимодействия ионов цинка с гуанином, приводящая к изменению спектральных характеристик нуклеотида.

Из литературных данных известно, что некоторые аналоги гуанина, такие как 7-метилгуанин и 2-аминопурин имеют выраженную флуоресценцию, которую используют для установления структурных характеристик ДНК. Кроме того, для некоторых неканонических структур ДНК, таких как G-квадруплексы с определенной структурой, наблюдаются схожие флуоресцентные свойства природных оснований. Таким образом, не только химические модификации оснований или особые структурные характеристики ДНК, но и взаимодействие с двухвалентными ионами может приводить к появлению флуоресценции гуанина. Изменение оптических свойств природного нуклеотида при комплексообразовании с Zn^{2+} дает дополнительную информацию о динамике возбужденных состояний ДНК, а также новое понимание роли ионов Zn^{2+} в биологически важных системах.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-04-00884

1. Onidas D., Markovitsi D., Marguet S. et al. Fluorescence Properties of DNA Nucleosides and Nucleotides: A Refined Steady-State and Femtosecond Investigation // The Journal of Physical Chemistry B., 2002, vol. 106, no. 43, pp. 11367-11374.

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЁНОК БАКТЕРИЯМИ *BACILLUS SUBTILIS*

Influence of Magnetic Field on Biofilm Formation by *Bacillus Subtilis*

Тихонова Т.А.

Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, РФ, tta-9@mail.ru

В естественной среде большинство микроорганизмов пребывают в виде биоплёнок. Биоплёнка – это конгломерат микроорганизмов в синтезируемом внеклеточном полимерном матриксе. В развитии бактерий биоплёнка играет важную роль. Выполняя функцию барьера, она повышает устойчивость к внешним факторам. В связи с этим, крайне важным является поиск эффектов влияющих на образование биопленок. Исследования, в области магнитной чувствительности бактерий, показали эффективность воздействий магнитных моментов атомных ядер изотопов и магнитного поля [1,2]. Что говорит о важности изучения влияния магнитного поля на биоплёнки.

С помощью электромагнита производства “Takeda Richen Ltd.” (Япония) в термостате создавали области магнитных полей в диапазоне 2–80 мТл. Бактерии культивировали одновременно в 24 контрольных точках, соответствующих 11 стационарным магнитным полям. Способность к образованию биоплёнок оценивали по степени связывания красителя кристаллического фиолетового. Метод основан на способности красителя связываться с клетками и матриксом биопленок. Метод позволяет получить относительные показатели плотности всей биопленки на поверхности подложки. Также была проверена колониеобразующая способность бактерий *B.subtilis* в постоянном магнитном поле 2–80 мТл.

Обнаруженные магнитно-полевые эффекты, в образовании биоплёнок бактериями *Bacillus subtilis*, растущих в среде LB, коррелируют с результатами полученных данных о колониеобразовании единиц бактерий в соответствующем диапазоне магнитного поля. Зависимости демонстрируют чувствительность процесса формирования биоплёнок и синтеза полисахаридного матрикса к магнитному полю в диапазонах 3–10 мТл и 65–75 мТл.

1. Авдеева Е.И., Летута У.Г. Влияние магнитного поля на колониеобразующую способность *E.coli* в присутствии изотопов магния // Вестник Оренбургского государственного университета, 2015, № 13 (188), с. 98-102.

2. Letuta U.G., Berdinskiy V.L. Magnetosensitivity of bacteria *E. coli*: Magnetic isotope and magnetic field effects // Bioelectromagnetics, 2017, no. 38 (8), pp. 581-591.

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ КЛЕТОК HeLa И L929 В ПРИСУТСТВИИ ГЕЛИЯ Cryopreservation of Cells Lines HeLa and L929 in the Presence of Helium

Уграицкая С.В., Шишова Н.В., Фесенко Е.Е. (мл.)

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, *ugraitskaya@mail.ru*

Криоконсервация – это процесс перехода клеток в состояние глубокого анабиоза, с остановкой обменных и биохимических реакций с последующим возвратом в состояние нормотермии. Несмотря на обширные исследования механизмов криповреждений и способов уменьшения негативного влияния низких температур на биологический материал, в литературе крайне мало работ, посвящено влиянию газов на процессы замораживания–оттаивания.

Изучено влияния гелия на выживаемость клеточных линий HeLa и L929 в процессе криоконсервации. Суспензию клеток инкубировали 2 ч в атмосфере гелия, азота или воздуха и замораживали в присутствии глицерина или без применения криопротектора. После оттаивания оценивали жизнеспособность клеток по окраске трипановым синим и развитию в культуре в течение 18 ч.

Гелий способствует лучшей сохранности клеточной суспензии по сравнению с азотом и воздухом. Наиболее сильно положительное влияние гелия проявлялось при замораживании без криопротекторов: выживаемость клеток линии HeLa повышалась в полтора–два раза с 61 ± 10 тыс.кл./см² в атмосфере воздуха до 120 ± 20 тыс.кл./см² в атмосфере гелия по показателю плотности клеточной культуры (рис. 1А).

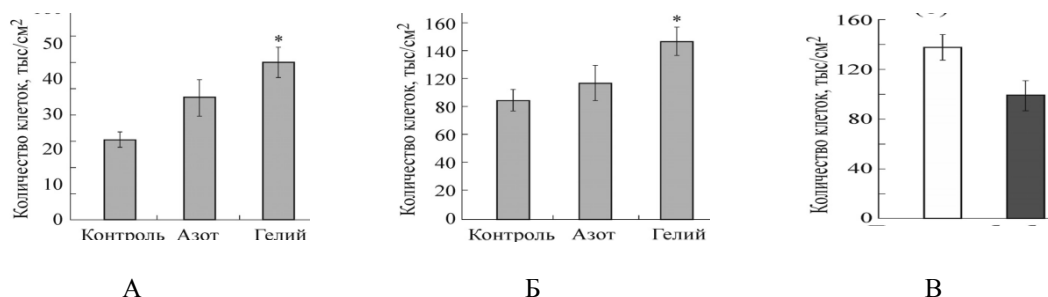


Рисунок 1. Жизнеспособность клеточной линии HeLa после криоконсервации без применения криопротектора (А) и линии L929 в присутствии 3 % глицерина (Б) в атмосфере гелия, азота и воздуха (контроль) по количеству адгезивных клеток ($n = 7$); (В) жизнеспособность клеток линии HeLa после криоконсервации без криопротектора в атмосфере гелия после насыщения газом по стандартному (белый цвет) и интенсивному (черный цвет) протоколам ($n = 8$). Данные представлены в виде средних и стандартной ошибки; * – достоверность различий между группами сравнения при $P \leq 0,05$

Плотность клеточной культуры L929, замороженной в среде, содержащей 3% глицерин, после инкубирования в атмосфере гелия составила 145 ± 20 тыс. кл./см², что в полтора раза превысило контрольное значение - 97 ± 15 тыс. кл./см². Инкубирование в атмосфере азота не привело к достоверному улучшению развития культуры по сравнению с контролем: показатель плотности составил 111 ± 25 тыс. кл./см².

Попытка полной замены газов среды на гелий за счет дополнительной предварительной обработки газом культуральной среды (интенсивный протокол) перед замораживанием HeLa привела к снижению выживаемости культуры клеток: в опыте плотность после культивирования в течение 18 ч составила 99 ± 21 тыс. кл./см², в контроле - 138 ± 18 тыс. кл./см² (рис. 1В). По-видимому, при интенсивном протоколе насыщения клеточной суспензии газами происходит слишком сильное снижение концентрации газов воздуха, что приводит к угнетению клеток и понижению их выживаемости.

Обработка клеточных суспензий гелием может быть использована для совершенствования методов криоконсервации, требующих снижения концентрации традиционных криопротекторов.

ВЫБРОС АТФ ВКУСОВЫМ ЭПИТЕЛИЕМ - EX VIVO МОНИТОРИНГ ATP Release by Taste Epithelium - ex vivo Monitoring

А.А. Хохлов, О.А. Рогачевская

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, *o.rogachevskaja@gmail.com*

Вкусовой эпителий представляет собой эпителиальную ткань языка с включением вкусовых почечных компактных образований из плотно упакованных вкусовых рецепторных клеток нескольких типов. На обращенной во вкусовую пору апикальной мембране этих клеток функционируют вкусовые рецепторы, обеспечивающие распознавание вкусовых молекул. Известно, что аминокислоты, горькие и сладкие вещества детектируются вкусовыми рецепторами T1R и T2R, которые экспрессируются во вкусовых клетках типа II и

относятся к суперсемейству гептаспиральных рецепторов, сопряженных с G-белками (G-protein coupled receptors, GPCRs). Дальнейшая передача вкусового сигнала включает активацию G-белками фосфолипазы C β 2, IP3-зависимую мобилизацию внутриклеточного Ca $^{2+}$ и активацию Ca $^{2+}$ -зависимых катионных каналов TRPM5. Последнее приводит к генерации деполяризирующего рецепторного потенциала, который стимулирует потенциал-зависимые Na $^{+}$ -каналы, инициируя генерацию серии потенциалов действия и открытие потенциал-зависимых АТФ-проницаемых ионных каналов. Вкусовая трансдукция завершается кодированием сенсорной информации в форме стимул-зависимого выброса АТФ - афферентного нейротрансмиттера, стимулирующего вкусовую нерв. Таким образом, синаптическая передача во вкусовых клетках типа II основана не на каноническом Ca $^{2+}$ -зависимом экзоцитозном механизме секреции, а обеспечивается Ca $^{2+}$ -независимым выбросом АТФ через АТФ-проницаемые ионные каналы базолатеральной мембраны. Этот процесс изучался на уровне одиночных клеток типа II, и был выявлен ряд закономерностей секреции АТФ [1-3].

Между тем, при исследовании стимул-зависимости выброса АТФ на уровне одиночных клеток или изолированных вкусовых почек практически невозможно стимулировать только апикальную мембрану клеток. Поэтому в таких экспериментах существует вероятность неспецифических эффектов вкусовых соединений [4]. Для исследования секреции АТФ вкусовыми клетками в условиях физиологически адекватной стимуляции нами разработан экспериментальный подход, основанный на использовании экспериментальной камеры, представляющей собой модификацию камеры Уссинга [5-6]. Экспериментальная камера формировалась двумя перфузируемыми отсеками, между которыми плотно зажимался и изолировался фрагмент языкового эпителия, содержащий желобоватый вкусовой сосочек. Вкусовые стимулы подавались через верхний отсек, в который была обращена наружная часть эпителия. Базальная часть вкусовых почек была обращена в нижний отсек, заполняемый люциферин-люциферазной смесью, для детекции выброса АТФ.

Эта методика впервые позволила в режиме реального времени наблюдать выброс АТФ вкусовыми клетками *ex vivo* в ответ на стимуляцию вкусовыми веществами только апикальной части эпителия при сохранении жизнеспособности вкусовой ткани и ее способности отвечать на горькие вещества в течении нескольких часов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-01035.

1. Taruno A., Nomura K., Kusakizako T. et al. Taste transduction and channel synapses in taste buds // *Pflugers Archiv*, 2021, vol. 473. doi: 10.1007/s00424-020-02464-4
2. Finger T.E., Danilova V., Barrows J. et al. ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves // *Science*, 2005, vol. 310, no. 5753. doi: 10.1126/science.1118435
3. Romanov R.A., Lasher R.S., High B. et al. Chemical synapses without synaptic vesicles: Purinergic neurotransmission through a CALHM1 channel-mitochondrial signaling complex // *Science Signaling*, 2018, vol. 11, no. 529. doi: 10.1126/scisignal.aao1815
4. Rogachevskaya O.A., Churbanov G.D., Bystrova M.F. et al. Stimulation of the extracellular Ca $^{2+}$ -sensing receptor by denatonium // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, vol. 416, no. 3-4. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.11.095
5. Ussing H.H., Zerahn K. Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin // *Acta Physiologica Scandinavica*, 1951, vol. 23. doi: 10.1111/j.1748-1716.1951.tb00800.x
6. He L., Yin Y., Li T., Huang R. et al. Use of the Ussing chamber technique to study nutrient transport by epithelial tissues // *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)*, 2013, vol. 18. doi: 10.2741/4178

РОЛЬ ЛАТЕРАЛЬНОГО НАТЯЖЕНИЯ В КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМОМ СЛИЯНИИ ФОСФОЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

The Role of the Lateral Tension in Calcium-Dependent Phospholipid Membrane Fusion

Чантурия А.Н.

Eastern Scientific, Rockville, USA, alexandr32@hotmail.com

Слияние клеточных мембран играет ключевую роль в передаче нервных импульсов, оплодотворении, секреции гормонов, внутриклеточном транспорте белков и проникновении вирусов в клетки. Несмотря на идентификацию ряда белков участвующих в этом процессе [1], мы всё еще далеки от понимания их роли в глубокой реорганизации мембран, происходящей при слиянии. Логично предположить, что регулируемое специфическими белками слияние мембран эволюционировало из примитивных, ранних безбелковых систем и может базироваться на тех же принципах.

Исследование слияния в безбелковой системе липосомы/плоская мембрана (БЛМ) продемонстрировало зависимость порога кальций-индуцируемого слияния от заряда фосфолипидов липосом, но не от заряда БЛМ. Это различие указывает на ключевую роль латерального натяжения мембраны в запуске механизма слияния [2].

Созданные для проверки этой гипотезы компьютерные модели продемонстрировали не только возможность слияние моно- и би-слоев при определенных параметрах безбелковой модели, но и слияние

белоксодержащих модельных мембран так же по механизму латерального стресса, но индуцированного молекулами белка [2].

Слияние гранул кортекса яйцеклеток морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus* исследовалось методом DIC (Дифференциально Интерференционно Контрастной) микроскопии в специально сконструированной ячейке, позволяющей медленное увеличение концентрации кальция в микромолярном диапазоне. Впервые показано, что кроме пороговой концентрации запуска слияния гранул с плазматической мембраной существует порог скорости роста концентрации, ниже которого слияние не происходит.

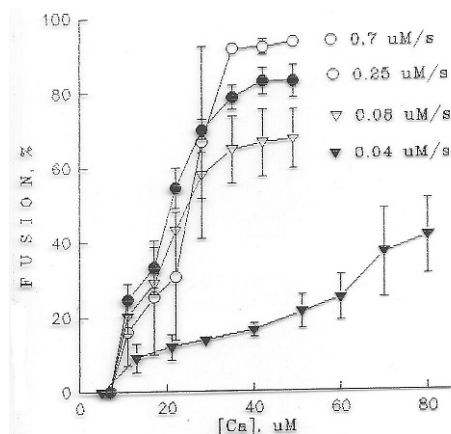


Рисунок 1. Зависимость слияния гранул кортекса с плазматической мембраной от скорости увеличения концентрации кальция

Процент слившихся гранул (F) рассчитывался по изменению светорассеяния по формуле:

$$F = 100 \cdot [1 - (I - I_{\min}) / (I_{\max} - I_{\min})],$$

где I – интенсивность рассеянного света; I_{\min} – Максимальное значение в начале эксперимента; I_{\max} – минимальное значение в тёмной зоне изображения.

Полученные данные указывают на то, что латеральный стресс является универсальным фактором, лежащим в основе механизмов слияния как искусственных, так и природных мембран.

1. Wang H., Zhang C., Xiao H. Mechanism of membrane fusion: protein-protein interaction and beyond // Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol., 2019, vol. 11 (6), pp. 250-225.
2. Chanturiya A., Scaria P., Kuksenok O, Woodle M.C. Probing the mechanism of fusion in a two-dimensional computer simulation // Biophys J., 2002, vol. 82 (6), pp. 3072-3080.
3. Chanturiya A., Scaria P., Woodle M.C. The Role of Membrane Lateral Tension in Calcium-Induced Membrane Fusion // J. Membr. Biology, 2000, vol. 176, pp. 67-75.

РАЗДЕЛЕНИЕ НАТИВНОГО СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULINA PLATENSIS*

Decomposition Native Absorption Spectrum of the Culture Micro Alga *Spirulina Platensis*

Чернышев Д.Н., Ключкова В.С.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, chernishev@gmail.com

Определение концентрации пигментов в клетках микроводорослей достаточно сложная задача, как на практике, так и в теории. В большинстве современных исследований применяются методы, предполагающие разрушение клеток с последующей экстракцией пигментов. Очень часто определение концентрации выделенных пигментов проводится спектрофотометрически. Спектры поглощения культур микроводорослей содержат сведения о поглощении света отдельными пигментами, и характеристики светорассеяния. Поглощение света культурой микроводорослей осложняется рассеянием, возникающими из-за того, что размеры клеток в суспензиях значительно больше, чем длина волны видимого света и неоднородным распределением пигментов в клетке.

Одним из решений проблемы идентификации и разделения пигментов является декомпозиция нативного спектра математическими методами. Спектры пигментов состоят из нескольких максимумов, форма и положение которых определяется хромофорными группами. Поглощение хромофорной группы, относительно максимума, распределено симметрично. Это свойство позволяет описать спектр пигмента одной или несколькими кривыми Гаусса. В настоящей работе выполнен анализ и разделение перекрывающихся полос в нативном спектре поглощения культуры.

В работе использовали культуру *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nordst.) Gomont, полученную из коллекции ФИЦ Института морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН, г. Севастополь. Спектры поглощения нативной культуры регистрировались в диапазоне от 400 до 800 нм на спектрофотометре Lambda 365 Double Beam UV-Visible с интегрирующей сферой.

При анализе спектра, для достоверного выявления максимумов была вычислена производная второго порядка. Контур второй производной похож на спектр поглощения, но его полосы уже и имеют более тонкую структуру. В производном спектре второго порядка были выявлены максимумы в следующих областях: 420, 440, 500, 600, 630, 682 нм. Полученные данные послужили начальными точками максимумов пиков при описании спектра кривыми Гаусса. Каждый отдельный пик был описан формулой:

$$D(\lambda) = D_{\max} \cdot e^{-\ln 2 \left(\frac{\lambda_i - \lambda_{\max}}{\sigma} \right)^2}, \quad (1)$$

где $D(\lambda)$ – оптическая плотность, отн. ед.; D_{\max} – амплитуда пика, отн. ед.; λ_i – длина волны, нм; λ_{\max} – положение максимума пика, нм; σ – полуширина пика, нм.

Таблица 1. Результаты вычислений пиков в спектре культуры *S. platensis*.

№ пика	1	2	3	4	5	6
I_{\max} положение максимума пика, нм	403	434	482	609	620	678
D_{\max} амплитуда пика, отн. ед.	1,051	1,240	1,068	0,785	0,231	0,567
σ полуширина пика, нм	17,0	20,9	38,6	73,7	29,5	13,0

Сравнивая полученные данные с литературными источниками, возможно, соотнести рассчитанные пики с определенными пигментами. Спектр хлорофилла *a* соответствует пикам с максимумами 402, 434, 620, и 678 нм. Суммарные каротиноиды представлены одним пиком 482 нм. Общий спектр фикобилиновых пигментов описан одним пиком с максимумом 609 нм.

Вычисленные данные (положения максимумов, отношение амплитуд, и полуширины пиков) можно в дальнейшем использовать как математическую модель отдельных пигментов. Предлагаемый способ декомпозиции спектра может быть использован как экспресс метод определения концентрации пигментов в культуре, без экстракции.

ЭНЕРГЕТИКА БИОСФЕРЫ КАК ОСНОВА ДЛЯ ПРОГНОЗА РАЗВИТИЯ НАШЕЙ ЦИВИЛИЗАЦИИ

Energy Laws of the Biosphere as a Basis for Predicting the Fate of Our Civilization

Чукова Ю.П.

Краснопресненский региональный фонд охраны природы и здоровья населения,
г. Москва, РФ, y.chukova@mtu-net.ru

Во второй половине XX века была разработана квантовая термодинамика необратимых изотермических процессов [1, 2]. Она разрабатывалась, ориентируясь на процессы преобразования энергии электромагнитного излучения в рукотворных неживых объектах, таких как люминесцирующие устройства и нетепловые преобразователи солнечного излучения. На этих системах была проведена проверка её соответствия экспериментальным данным, и было выявлено не только качественное, но и количественное соответствие теоретических и экспериментальных результатов.

Вызвало удивление то, что законы, полученные для неживых систем, оказались применимыми к живым системам и позволили ответить на ряд кардинальных вопросов фотобиологии, которые были сформулированы 100 лет назад и не могли найти ответа при использовании индуктивных методов разных наук. Таковы, например, проблемы спектральной чувствительности глаза человека и основной рабочей характеристики его (зависимости отклика от силы внешнего воздействия). Для ответа на эти вопросы достаточно рассмотрения термодинамического предела КПД преобразования света. Для ответа на вопросы, лежащие в области фотосинтеза и фотодвижения простейших организмов, потребовалось рассмотрение необратимости процессов. Учёт необратимости позволил понять, почему за три десятилетия стараний многих лабораторий мира не

удалось повысить продуктивность риса. Учёт сверхлинейного роста необратимости позволил выявить причину смены положительных типов фотодвижения на отрицательные [3].

В итоге в настоящее время можно считать, что основы энергетики биосферы сформулированы, ибо кроме выше упомянутых эффектов квантовая термодинамика сумела объяснить много других прежде не до конца понятых эффектов [2]. Особенно любопытно то, что законам квантовой термодинамики подчиняются эффекты на молекулярном, клеточном, организменном уровне и даже на популяционном уровне живых систем.

Крайне важным явилось то, что глобальная экологическая система, рассмотренная Римским клубом [4], и прогнозирующая гибель нашей цивилизации, по существу является частным случаем общей открытой термодинамической системы в квантовой термодинамике. Это даёт подход для естественно-научного и научно-технического анализа путей изменения нашей цивилизации. Показано, что устойчивое функционирование разных систем имеет место в условиях логарифмической зависимости КПД эффекта от силы воздействия на систему, а также при слабом отклонении от этого закона. Сильное отклонение приводит к гибели системы.

1. Чукова Ю.П. Эффекты слабых воздействий. Термодинамический, экспериментальный (биологический и медицинский), социальный, законодательный, международный и философский аспекты проблемы. М «Алес», 2002, 426 с.

2. Чукова Ю.П. Введение в квантовую термодинамику необратимых изотермических процессов. М.: Мегapolis, 2018, 480 с.

3. Чукова Ю.П. Энергетические законы биофизики: теория и эксперимент // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2020, т. 5, № 1, с. 52-62.

4. Чукова Ю.П. От М. Планка, А. Эйнштейна и Л. Ландау до Римского клуба. М. Мегapolis, 2020, 216 с.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА НА ВРЕМЯ АКТИВАЦИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КЛЕТКАХ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Effect of Selenium Nanoparticles on the Antioxidant System Activation Time in Ehrlich Ascitic Carcinoma Cells

Яковлева Ю.А.^{1,2}, Шадрин К.В.¹, Пахомова В.Г.¹, Тарских С.В.¹, Макарская Г.В.¹, Крюкова О.В.¹

¹ ФИЦ Красноярский научный центр СО РАН, г. Красноярск, РФ, shadrin.kv@ksc.krasn.ru

² Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, yakovleva.ju@mail.ru

Высокий уровень электромагнитной нагрузки антропогенного происхождения способен приводить к увеличению скорости генерации свободных радикалов в клетках, вызывая апоптоз [1]. Для предотвращения окислительного стресса существуют биологически активные добавки в составе которых присутствуют биологически активные металлы, например, селен, обладающий антиоксидантной активностью. Своими свойствами, он снижает количество АФК в клетках, тем самым предотвращает их апоптоз. Однако существуют данные о том, что электромагнитное воздействие способно стать эффективным способом борьбы с опухолевыми клетками, путем увеличения в них скорости генерации АФК. Но проявления антиоксидантных свойств наночастиц селена при воздействии на опухолевые клетки электромагнитным излучением в литературе не обсуждаются.

Влияние наночастиц селена, покрытых арабиногалактаном, на изменение концентрации свободных радикалов в клетках асцитной карциномы Эрлиха оценивали методом хемилюминесцентного анализа и оценкой жизнеспособности экспериментальной опухоли методом проточной цитометрии. Суспензию опухолевых клеток, полученную из животных-опухолоносителей, разделили на 3 группы:

1. «АКЭ» – контрольная группа с клетками опухоли без добавления наночастиц селена и арабиногалактана (n=24 пробы);
2. «АКЭ+НЧ» – опытная группа с клетками опухоли и добавлением наночастиц селена (соотношение объема суспензии клеток к объему наночастиц селена составило 1:1) (n=24 пробы);
3. «АКЭ+Арабиногалактан» – опытная группа с клетками опухоли и добавлением арабиногалактана (соотношение объема суспензии клеток к объему арабиногалактана составило 1:1) (n=24 пробы).

По результатам хемилюминесцентного анализа были получены данные о первичных и вторичных АФК для трех групп по следующим параметрам: площадь под кривой хемилюминесценции (S), характеризующая суммарный синтез АФК, максимальное значение интенсивности хемилюминесценции (I_{max}), показывающее максимальный уровень синтеза АФК и время достижения максимума интенсивности (t_{max}), описывающее скорость развития хемилюминесцентной реакции. По результатам статистической обработки данных статистически значимые различия выявлены между группами «АКЭ+НЧ» и «АКЭ+Арабиногалактан» для параметра «Первичные АФК (t_{max})» (табл. 1).

Таблица 1. Статистическое описание значений для времени достижения максимума интенсивности хемилюминесценции для параметра «Первичные АФК (t_{max})»

Параметр/группа	АКЭ	АКЭ+НЧ	АКЭ+Арабиногалактан
Первичные АФК(t_{max}), мин	22,04±16,79	26,04±19,04	16,04±11,83

Исходя из результатов проточной цитометрии было получено, что жизнеспособность клеток опухоли не изменялась при добавлении нанокompозитов селена по сравнению с контролем.

Известно, что селен и подобные ему металлы, типа теллура, способны оказывать селективное цитотоксическое действие на опухолевые клетки посредством активации апоптоза в результате окислительного стресса [2]. Предположительно, в условиях воздействия СВЧ данный механизм способен изменяться и количество АФК не возрастает, следовательно, окислительный стресс отсутствует, однако время активации антиоксидантной системы происходит позже.

Полученные данные свидетельствуют о том, что влияние наночастиц селена, покрытых арабиногалактаном, на клетки опухоли отражается в виде увеличения времени задержки активации антиоксидантной системы.

1. Григорьев Ю.Г. Возможность развития опухолей мозга у пользователей сотовыми телефонами (научная информация к решению международного агентства по исследованию рака (IARC) от 31 мая 2011 г.) // Радиационная биология. Радиоэкология, 2011, т. 51.5, с. 633-638.

2. Jamier V., Lalla A. Ba, Claus J. Selenium-and tellurium-containing multifunctional redox agents as biochemical redox modulators with selective cytotoxicity // Chemistry – A European Journal, 2010, vol. 16.36, pp. 10920-10928.

СЕКЦИЯ 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ В БИОФИЗИКЕ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЫ ЦИТОХРОФИНА 4 Theoretical Conformational Analysis of Cytochrome-4 Molecule

Агаева Л.Н., Абдинова А.А., Ахмедова С.Р., Ахмедов Н.Ф., Ахмедов Н.А.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, leylanamig@mail.ru
Азербайджанский государственный педагогический университет, г. Баку, Азербайджан
Азербайджанский технический университет, г. Баку, Азербайджан

Опиоидные пептиды в настоящее время считаются наиболее изученной группой сигнальных веществ пептидной природы. Опиум вызывает обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Эти пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Представителями экзорфинов являются также цитохрофины и геморфины. Предполагается, что эти пептиды могут образовываться *in vivo* при протеолитическом расщеплении цитохрома b и гемоглобина. Показано, что обладающие относительной δ -селективностью экзорфин С и рубисколин-5 характеризуются сходным по направленности действием на поведение детенышей белых крыс. Последствия применения цитохрофина-4 были наиболее близки к действию β -казоморфина-5 короткого μ -селективного фрагмента β -казеина. Оба эти пептида оказывали анксиолитическое влияние при острых инъекциях; после хронического введения их эффекты быстро угасали по мере созревания мозга детенышей.

Расчет молекулы выполнен с помощью метода теоретического конформационного 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 монополярном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности молекулы рубисколина изучены в условиях водного окружения, в связи с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе. В наших вышеупомянутых работах подробно описаны используемые потенциальные функции.

Трехмерная структура молекулы цитохрофина 4 (Tyr1-Pro2-Phe3-Thr4) была исследована на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков. Результаты расчета показывают, что в энергетический интервал 0–2 ккал/моль попадают конформации двух шейпов *e*_{fe} и *e*_{ff} и они представлены соответственно пятью и девятью конформациями. Относительные энергии конформаций шейпов *e*_{ef} и *e*_{ee} больше, чем 2 ккал/моль. Таким образом, в энергетический интервал 0–3 ккал/моль попадают конформации всех четырех шейпов. Энергия невалентных взаимодействий в низкоэнергетических конформациях изменяется в энергетическом интервале (-13,2)–(-11,6) ккал/моль, электростатических взаимодействий (-2,0)–(0,5) ккал/моль, торсионных взаимодействий 1,7–3,6 ккал/моль. Шейп *e*_{fe} молекулы цитохрофина 4 представлен девятью низкоэнергетическими конформациями. Их относительная энергия изменяется в энергетическом интервале 0–4,0 ккал/моль. Глобальной конформацией молекулы цитохрофина 4 является конформация V₃ R V₁ V₃ шейпа *e*_{fe}. Конформация является выгодной по невалентным и электростатическим взаимодействиям. В этой конформации возникают эффективные ди-, три и тетрапептидные взаимодействия, Tyr1 эффективно взаимодействует с трипептидным фрагментом Pro2-Phe3-Thr4, вклад которых составляют (-14,3) ккал/моль, также Pro2 с Phe3 и Phe3 с Thr4. Общий вклад межостаточных взаимодействий составляет (-19,4) ккал/моль. Конформация V₁ R R₁ R₁ шейпа *e*_{ff} с относительной энергией 0,4 ккал/моль сразу выгодна по невалентным взаимодействиям и электростатическим взаимодействиям и их вклад наибольшей, чем в других конформациях. В этой конформации также возникают эффективные ди-, три и тетрапептидные взаимодействия, Tyr1 эффективно взаимодействует с трипептидным фрагментом Pro2-Phe3-Thr4, вклад которых составляют (-13,4) ккал/моль, также Pro2 с Phe3 и Thr4 и Phe3 с Thr4. Общий вклад межостаточных взаимодействий составляет (-19,5) ккал/моль.

Конформация V₁ V₂ V₁ шейпа *e*_{ee} имеет относительную энергию 2,1 ккал/моль. В этой конформации вклад Tyr1 с трипептидным фрагментом Pro2-Phe3-Thr4 составляет (-10,1) ккал/моль. Как видно этот вклад меньше, чем в предыдущих конформациях. Взаимодействия между остатком Pro2 с другими аминокислотными остатками не возникают. Только Phe3 эффективно взаимодействует с остатком Thr4. Общий вклад межостаточных взаимодействий составляет (-14,0) ккал/моль. Конформация V₂ V₂ R₁ шейпа *e*_{ee} имеет также относительную энергию 2,1 ккал/моль. Межостаточных взаимодействий в этой конформации приблизительно такие же как в предыдущей конформации.

Теоретический конформационный анализ тетрапептидной молекулы цитохрофина 4 привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСНОВНЫХ РИТМОВ ГИППОКАМПА С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ РЕЦЕПТОРОВ NMDA

Modeling of the Main Rhythms of the Hippocampus with Different Types of NMDA Receptors

Аксенова С.В., Батова А.С., Бугай А.Н., Душанов Э.Б.

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, kgyr@mail.ru

Интродупные рецепторы N-метил-D-аспартат (NMDA) играют важную роль в формировании синаптической пластичности, являющейся основой процессов обучения и формирования различных видов памяти. Дисфункция NMDA-рецепторов может сопровождаться рядом патологических процессов, которые приводят к развитию различного рода неврологических и ментальных заболеваний, таких как шизофрения, болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона, биполярное расстройство и других когнитивных нарушений [1, 2]. Обычно NMDA представляют собой лиганд-управляемые неселективные интродупные рецепторы (iGluR), обнаруживаемые преимущественно в синапсах гиппокампа и коры головного мозга. Эти рецепторы являются гетеротетрамерными белковыми комплексами, чаще всего состоящими из двух классов родственных субъединиц GluN1 и GluN2A-D [3].

Состав субъединиц тетрамера NMDA не является постоянным и изменяется во время развития в ответ на нейрональную активность или сенсорный опыт. Эта пластичность, которая долгое время считалась происходящей исключительно во время развития, также может проявляться во взрослых синапсах. Изменения в составе субъединиц могут быть быстрыми (время в минутах) и могут оказывать глубокое влияние на функционирование синапсов и сетей [4].

Во время раннего постнатального развития рецепторы NMDA меняют состав своих субъединиц с преимущественно содержащих субъединицы GluN2B на преимущественно содержащих субъединицы GluN2A. Эта замена субъединиц происходит по всей центральной нервной системе, на уровне классов сохраняется от земноводных до млекопитающих и происходит в течение временного окна, которое совпадает с созреванием синапсов, детализацией цепи и приобретением способностей к обучению [5].

В данной работе было проведено молекулярно-динамическое моделирование активации ионного канала различных типов NMDA (GluN1/GluN2A, GluN1/GluN2B, GluN1/GluN2A/GluN2B). Проводимость ионного канала вычислялась по данным, полученным с помощью программы HOLE, а также исходя из анализа связывания ионов магния в ионном канале рецептора. Анализ полученных структур позволил определить изменение проводимостей ионного канала. Полученные данные использовались в модели нейронной сети гиппокампа с рецепторами AMPA, GABA и различными типами NMDA. Для изучения поведения подобной нейронной сети применялся пакет NEURON [6]. Изучение сетевой активности нейронов с различными типами NMDA выявило незначительные изменения проводимости ионного канала и локального потенциала в зависимости от субъединиц, входящих в состав рецептора. В случае ди-гетеромерной модели GluN1/GluN2A NMDA-рецептора наблюдалось падение амплитуды тета-частотных и рост гамма-частотных диапазонов по сравнению с нативными формами NMDA-рецептора. Для три-гетеромера GluN1/GluN2A/GluN2B не обнаружено значимых изменений по сравнению с GluN1/GluN2B, но наблюдается заметная тенденция, подчеркивающий ди-гетеромер/три-гетеромер/ди-гетеромер переход рецептора из GluN1/GluN2B типа на GluN1/GluN2A тип.

Ранее проведенные исследования [7] показали влияние мутационных изменений в структуре на процесс активации ионного канала NMDAR. Полученные характеристики структур с мутациями имеют согласие с экспериментальными показателями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-29-01007) и ОМУС ОИЯИ (грант № 21-702-01).

1. Dingledine R., Borges K., Bowie D., Traynelis S.F. // *Pharmacological Reviews*, 1999, vol. 51, no. 1, pp. 7-62.
2. Collingridge G.L., Volianskis A., Bannister N. et al. The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement // *Neuropharmacology*, 2013, vol. 64, pp. 13-26. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.06.051
3. Kumar A. NMDA Receptor Function During Senescence: Implication on Cognitive Performance // *Front. Neurosci.*, 2015. doi: 10.3389/fnins.2015.00473
4. Paoletti P., Bellone C. Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease // *Nature*, 2013, vol. 14, pp. 383-400, DOI: 10.1038/nrn3504
5. Dumas, T.C. Developmental regulation of cognitive abilities: modified composition of a molecular switch turns on associative learning // *Prog. Neurobiol.*, 2005, vol. 76, pp. 189-211. doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.08.002
6. Hines M.L., Carnevale N.T. The NEURON simulation environment // *Neural Comput.*, 1997, vol. 9, pp. 1179-1209. doi: 10.1162/neco.1997.9.6.1179

7. Batova A.S., Bugay A.N., Dushanov E.B. Effect of mutant NMDA receptors on oscillations in a model of Hippocampus // Journal of Bioinformatics and Computational Biology, 2019, vol. 17, no. 01. doi: 10.1142/S0219720019400031

О СВОЙСТВАХ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ С УЧЕТОМ АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ И СВЯЗАННОГО С НЕЙ ПРОИЗВОДСТВА ФАКТОРА V **On the Properties of a Mathematical Model of Blood Clotting Taking into Account the Activation of Platelets and the Associated Production of Factor V**

Андреева А.А., Лобанов А.И.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Москва, РФ,
anna.a.andreeva@phystech.edu

В работе рассматривается математическая модель свертывания крови, состоящая из 46 ОДУ, учитывающая мембранные реакции и полимеризацию фибрина. Основные реакции свертывания учитываются аналогично [1]. В отличие от [1] в модель включены уравнения, описывающие эволюцию концентрации фактора XI. Это позволило ликвидировать некоторые недостатки модели [1] и достигнуть качественного соответствия с экспериментальными данными [2]. Система уравнений не учитывает производство фактора V при активации тромбоцитов, играющее важную роль при свертывании [3]. В уравнения математической модели добавлены члены, учитывающие такое изменение концентраций форм V фактора. Это позволило достичь количественного соответствия с экспериментальными данными [2].

Система ОДУ является жесткой, поэтому для ее численного решения использовался одностадийный метод Розенброка с комплексными коэффициентами CROS, реализованный на языке C. Метод монотонный, L2-устойчивый, имеет второй порядок аппроксимации. [4].

Важную роль в процессе свертывания играет внутренняя теназа. Было проведено численное исследование чувствительности уравнений для комплекса внутренней теназы к группам параметров, отвечающих за реакции с учетом фактора V, и к параметрам, зависящим от липидного состава клеточных мембран. Для построения функции чувствительности одновременно с исходной нелинейной системой ОДУ решалась расширенная система в вариациях.

В результате численных расчетов получено, что чувствительность к константам реакций для фактора V на несколько порядков больше, чем чувствительность к параметрам, зависящим от липидного состава.

1. Andreeva A.A., Anand M., Lobanov A.I. et al. Mathematical modelling of platelet rich plasma clotting. Pointwise unified model // Russian Journal of Numerical Analysis and Mathematical Modeling, 2018, vol. 33, no. 5, pp. 265-323.

2. Mann K.G. Is there value in kinetic modeling of thrombin generation: Yes // J. Thromb Haemost, 2012, vol. 10, no 8, pp. 1463-1469.

3. Tracy P.B., Peterson J.M., Nesheim M.B. et al. Interaction of Coagulation Factor V and Factor Va with Platelets // The Journal of Biological Chemistry, 1979, vol. 254, no. 20, issue of October 25, pp. 10354-10361.

4. Ширков П.Д. Оптимально затухающие системы с комплексными коэффициентами для жёстких систем ОДУ // Математическое моделирование, 1992, т. 4, № 8, с. 47-57.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ КАЗОКСИНА А **Spatial Structure of the Casoxin A Molecule**

Ахмедов Н.А., Агаева Л.Н., Аббаслы Р.М., Исмаилова Л.И.

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем, г. Баку, Азербайджан,
Namiq.49@bk.ru

Опиоидные пептиды в настоящее время считаются наиболее изученной группой сигнальных веществ пептидной природы. Опиум вызывает обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Эти пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Обнаружен ряд молочных экзорфинов, имеющих свойства антагонистов опиоидных рецепторов. К ним относятся казоксины А, В, С, человеческий казоксин D, а также лактоферроксины А, В и С.

Возможность образования этих пептидов при гидролизе соответствующих белков пептидазами желудочно-кишечного тракта доказана *in vitro*.

Казоксины и казоморфины представляют собой пептиды, которые воздействуют на опиоидную систему, которая влияет на темп пищеварения. Казоморфины являются опиоидными агонистами (активаторами), а казоксины – опиоидными антагонистами. Казеин обладает высоким содержанием казоксина и казоморфина, что объясняет сниженную пропускную способность после потребления (поскольку активация опиоидной системы снижает моторику кишечника). Физиологическое действие антагонистических экзорфинов до сих пор изучено очень слабо. Некоторые молочные экзорфины (казоморфины, казоксины, лактоферроксины) могут не только образовываться при переваривании молока в желудочно-кишечном тракте, но и содержаться в сырах, поскольку технология изготовления сыра связана с ферментативной обработкой [1].

Расчет молекулы выполнен с помощью метода теоретического конформационного 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 монополярном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности молекулы рубисколины изучены в условиях водного окружения, в связи с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе. В наших вышеупомянутых работах подробно описаны используемые потенциальные функции.

Трехмерная структура молекулы казоксина А (Tyr1-Pro2-Ser3-Tyr4-Gly5-Leu6-Asn7-NH₂) была исследована фрагментарно. Сначала, на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков изучена пространственная структура N-концевого тетрапептидного фрагмента Tyr1-Pro2-Ser3-Tyr4 и C-концевого тетрапептидного фрагмента Tyr4-Gly5-Leu6-Asn7-NH₂ молекулы казоксина А и определены их стабильные конформации. На втором этапе, на основе низкоэнергетических конформаций N-концевого тетрапептидного фрагмента Tyr1-Pro2-Ser3-Tyr4 и C-концевого тетрапептидного фрагмента Tyr4-Gly5-Leu6-Asn7-NH₂ молекулы была рассчитана пространственная структура казоксина А (Tyr1-Pro2-Ser3-Tyr4-Gly5-Leu6-Asn7-NH₂).

Для исследования пространственной структуры молекулы казоксина А начальные приближения формировались на основе трех форм основной цепи N-концевого тетрапептидного фрагмента Tyr1-Pro2-Ser3-Tyr4 и шестнадцати форм основной цепи C-концевого тетрапептидного фрагмента Tyr4-Gly5-Leu6-Asn7-NH₂ молекулы. Поэтому на первом этапе были рассчитаны несколько сот конформаций гептапептидной молекулы казоксина А. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между конформациями, формами основных цепей и шейпами. В энергетический интервал 0-7.0 ккал/моль попадают конформации четырнадцати шейпов пептидного скелета. Эти шейпы представлены девятнадцатью формами основной цепи. N-концевой трипептидный участок Tyr1-Pro2-Ser3 молекулы казоксина А является конформационно жестким, представлен тремя шейпами (eef, eee, efe) и тремя формами основной цепи (BBR, BBB, BRB). C-концевой тетрапептидный участок Tyr4-Gly5-Leu6-Asn7-NH₂ молекулы является конформационно лабильным.

Таким образом, теоретический конформационный анализ гептапептидной молекулы казоксина А привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

1. Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Каменский А.А. Опиоидные пептиды, получаемые с пищей и их влияние на нервную систему // Успехи физиологических наук, 2015, т. 46, № 1, с. 22-46.

СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКАЯ АНГАРМОНИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ И ИК СПЕКТР 2-БЕНЗИЛФЕНОЛА

Structural Dynamic Anharmonic Model and IR Spectrum of 2-Benzylphenol

Бабков Л.М.¹, Москвитин М.Д.¹, Давыдова Н.А.², Баран Я.³

¹ Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов РФ, lmbabkov@gmail.com

² Институт физики НАН Украины, г. Киев, Украина

³ Институт исследования низких температур и структуры ПАН, г. Вроцлав, Польша

2-бензилфенол на протяжении ряда лет является объектом теоретических и экспериментальных исследований, предмет которых весьма разнообразен. В данной работе впервые решена задача построения структурно-динамических моделей молекулы 2-бензилфенола в ангармоническом приближении и дана интерпретация его измеренного ИК спектра. ИК спектры измерены в области 400–4000 см⁻¹ в интервале температур 11–335 К в твердокристаллических и жидкой фазах. В моделировании использован метод теории функционала плотности, V3LYP/6-31G(d) и программный комплекс GAUSSIAN'09. Вычислены внутримолекулярные параметры и рассчитан ИК спектр его молекулы. Строение молекулы приведено на рисунке 1. Рассчитанная геометрия молекулы согласуется с данными работ других авторов [1].

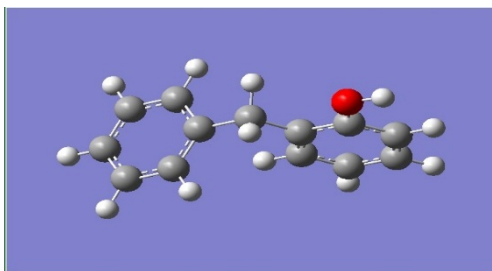


Рисунок 1. Структура молекулы 2-бензилфенола

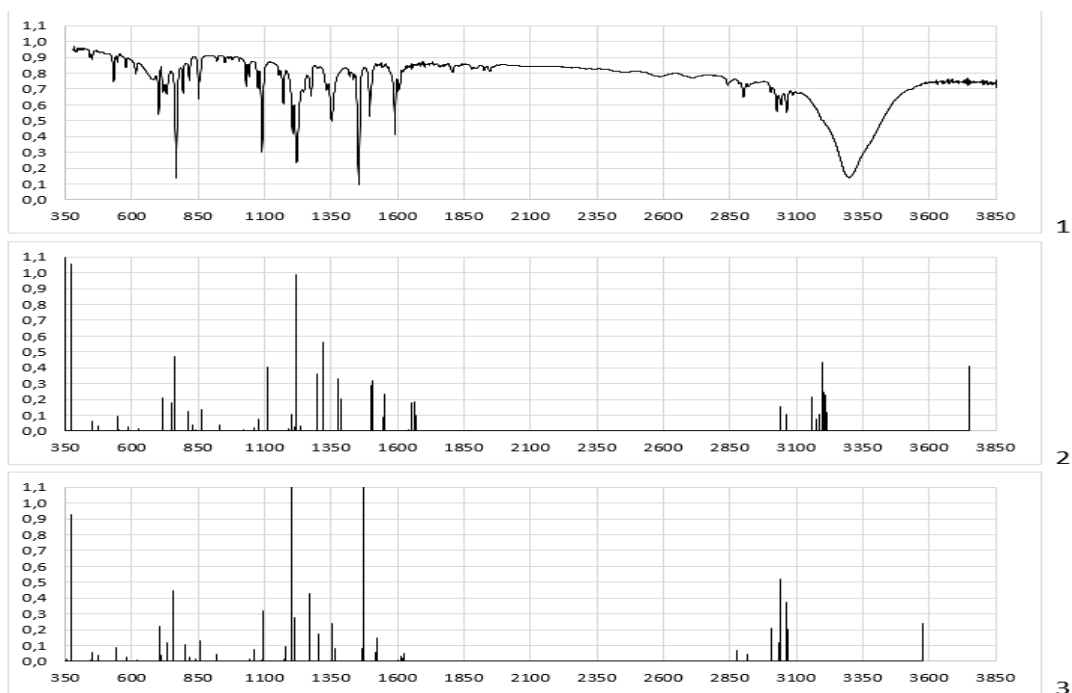


Рисунок 2. ИК спектры 2-бензилфенола: измеренный – 1; рассчитанные в гармоническом – 2 и ангармоническом – 3 приближениях

На рисунке 2 приведены ИК спектры 2-бензилфенола. Частоты даны в см^{-1} , интенсивности – в относительных единицах. Результаты моделирования показали, что использование ангармонического приближения позволило существенно приблизить рассчитанный спектр к измеренному.

1. Katsyuba S., Chernova A., Schmutzler R. Vibrational spectra and conformational isomerism of calixarene building blocks: 2-benzylphenol // *Org. Biomol. Chem.*, 2003, no. 1, pp. 714-719.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭВОЛЮЦИИ ТРАНСГЕННЫХ БАКТЕРИЙ (ГМО) В МОДЕЛЬНЫХ И ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ Mathematical Modelling of Transgenic Bacteria Experimental Evolution (GMO) in Model and Natural Ecosystems

Брильков А.В.¹, Логинов Ю.Ю.^{1,2}, Брилькова Е.В.^{1,3}, Ганусов В.В.⁴

¹ Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, abrilkov@sfu-kras.ru

² Сибирский государственный университет науки и технологий им. ак. М.Ф. Решетнева, г. Красноярск, РФ, loginov@sibsau.ru

³ Институт биофизики ФИЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, evmorbril@mail.ru

⁴ University of Tennessee, Knoxville, USA, vitaly.ganusov@gmail.com

В работе проанализирована динамика популяций трансгенных микроорганизмов (ГМО) в условиях ограничения их роста недостатком энергетических субстратов. Эти условия характерны для развития ГМО в природе. Наиболее адекватной экологической моделью природных условий является непрерывное культивирование (хемостат). Показано, что стоимость поддержания ГМО резко возрастает при низких скоростях размножения трансгенных бактерий. Это связано с повышением эффективности экспрессии клонированных

генов при ограничении роста ГМО. В наших экспериментах обнаружено возрастание эффективности экспрессии генов биолюминесценции природных морских светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi*, клонированных в *Escherichia coli* Z905, при низких температурах при непрерывном культивировании.

Причины широкого распространения трансгенных микроорганизмов в природных экосистемах не совсем понятны до сих пор. Экспериментальные исследования указывают на то, что трансгенные плазмидсодержащие микроорганизмы имеют, как правило, меньшую удельную скорость роста, чем их бесплазмидные варианты [1]. Это может быть прямое влияние экспрессии плазмидных генов на жизнеспособность плазмидсодержащих клеток или же расходование клеточных ресурсов на поддержание плазмид. Почему трансгенные микроорганизмы теряют плазмиды при культивировании и не теряют их в природе, остается загадкой (плазмидный парадокс) [1, 2]. В настоящей работе предложена математическая модель влияния различной эффективности экспрессии клонированных генов на селективное преимущество трансгенных бактерий. Анализ математической модели позволяет оценить «стоимость» поддержания плазмид трансгенных микроорганизмов при периодическом культивировании и при лимитировании роста в хемостате. Именно стоимость плазмид, содержащих активно функционирующие клонированные гены, определяет вероятность распространения генетически модифицированных микроорганизмов в природных экосистемах.

1. MacLean R.C., San Millan A. Microbial Evolution: Towards Resolving the Plasmid Paradox // Current biology, 2015, vol. 25, no. 17, pp. R764-R767.

2. Carroll A.C., Wong A. Plasmid persistence: costs, benefits, and the plasmid paradox // Can. J. Microbiol., 2018, vol. 64, pp. 293-304.

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ СТРУКТУРЫ И ДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЛЕКУЛ АЛЛАТОСТАТИНОВ

Study of the Electronic Structure and Dynamic Properties of Allatostatin Molecules

Велиева Л.И., Алиев Р.Э.

Бакинский государственный университет, г. Баку, Азербайджан, Lala_Veliyeva@rambler.ru

Изучение электронной структуры и конформационно-динамических свойств биологических молекул, в том числе нейропептидов, становится все более актуальным в связи с высоким уровнем развития компьютерных технологий и все большим распространением соответствующих программных продуктов. Исследования в этом направлении актуальны также с точки зрения решения одной из важных проблем современной науки, связанной с установлением взаимосвязи между структурой молекул и их функциональной активностью. К числу объектов интенсивного исследования последнего десятилетия можно отнести нейропептиды семейства аллатостатинов, обладающих уникальной способностью регулировать процессы синтеза и выделения ювенильных гормонов у различных видов насекомых [1-4]. Семейство аллатостатинов включает в себя пептидные молекулы, известные под названием аллатостатины I-IV или Dipru-ASTs.

В данной работе методом молекулярной механики MM+ [5-10] исследованы динамические свойства молекул аллатостатинов, выявлены устойчивые элементы пространственной структуры, проведена количественная оценка пределов изменения двугранных углов основной цепи пептидных молекул в процессе динамических перестроек. Полуэмпирическим методом квантовой химии MNDO в стандартной параметризации было исследовано также электронное строение аллатостатинов и проведен сопоставительный анализ полученных результатов.

Полученные результаты будут использованы для молекулярного моделирования аналогов нейропептидов и изучения их структурно-функциональной взаимосвязи с целью выявления общих элементов пространственной структуры, ответственных за фармакологические эффекты исследуемых соединений.

1. Veelaert D., Devreese B., Schoofs L. et al. Isolation and characterization of eight myoinhibiting peptides from the desert locust, *Schistocerca gregaria*: new members of the cockroach allatostatin family // Mol. Cell Endocrinol., 1996, vol. 122 (2), pp.183-190.

2. Veelaert D., Devreese B., Schoofs L. et al. Isolation and characterization of schistostatin-2 (11-18) from the desert locust, *Schistocerca gregaria*: a truncated analog of schistostatin-2 // Regulatory peptides, 1996, vol. 67 (3), pp.195-199

3. Bendena W.G., Donly B.C., Tobe S.S. Allatostatins: A growing family of neuropeptides with structural and functional diversity // Ann.N.-Y.Academy of Sciences, 1999, vol. 897, pp. 311-329.

4. Edwards J.P., Audsley N., Marris G.C., Weaver R. The role of allatostatic and allatropic neuropeptides in the regulation of juvenile hormone biosynthesis in *Lacania oleracea* // Peptides, 2001, vol. 22 (2), pp. 255-261.

5. Шноль Э.Э., Гривцов А.Г. и др. Метод молекулярной динамики в физической химии. М.: Наука, 1996.

6. Шайтан К.В., Сарайкин С.С. Метод молекулярной динамики, 1999.

7. Велиева Л.И., Мусаев М.А., Алиева И.Н. Структурное исследование молекулы аллатостатина-II // В материалах Международной научной Конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем», Минск, Беларусь, 2006, с. 111-113.

8. Alieva I.N., Veliyeva L.I., Musayev M.A., Gojajev N.M. Conformational features of the Dippu-AST 8 neuropeptide from Cockroach *Diploptera punctata* // Protein and Peptide Letters, 2006, vol. 13, pp. 1007-1015.

9. Мусаев М.А., Велиева Л.И., Алиева И.Н., Годжаев Н.М. Пространственная структура нейропептида аллатостатина-4 // Вестник Бакинского Университета, серия физ-мат. наук, 2005, № 2, с. 167-178.

10. Велиева Л.И., Мусаев М.А., Алиева И.Н., Годжаев Н.М. Молекулярная динамика нейропептидов семейства аллатостатинов // Вестник Бакинского Университета, серия физ-мат. наук, 2006, № 1, с. 120-131.

ОСОБЕННОСТИ ПОГЛОЩЕНИЯ УГЛЕРОДА КЛЕТКАМИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ Features of Carbon Absorption by Cells of Cyanobacteria

Геворгиз Р.Г., Лелеков А.С.

ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,
a.lelekov@yandex.ru

Цианобактерии – представители низших фототрофов – обладают чрезвычайно гибким метаболизмом, что позволяет им расти и вегетировать практически в любых типах экосистем, включая экстремальные. В ходе эволюции цианобактерии приобрели способность переживать неблагоприятные периоды лимитирования роста различными абиотическими факторами среды. Особую роль в лимитировании роста играют биогенные элементы: азот, фосфор, углерод и др. Из всех биогенных элементов доля углерода в биомассе цианобактерий наибольшая – составляет около 50 % сухого вещества клеток. Поэтому именно доступность углерода наиболее часто выступает в роли лимитирующего рост фактора.

Известно, что микроводоросли способны к миксотрофному и гетеротрофному росту, поглощая органический углерод [1]. Но для фотосинтетических процессов цианобактериям требуется неорганический углерод, который поглощается клетками либо в форме гидрокарбонат-иона, либо углекислого газа. Ключевой фермент, обеспечивающий связывание неорганического углерода с последующим образованием фосфолированных сахаров, является рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза (РБФК) [2]. РБФК катализирует присоединение CO_2 к первичному акцептору углерода в цикле Кальвина рибулозо-1,5-бисфосфату, при этом образуется две C_3 -молекулы фосфогицериновой кислоты (ФГК). Карбоксилазная и оксигеназная активность РБФК определяются соотношением концентраций углекислоты и кислорода в окрестностях реакционного центра фермента [2]. На сегодняшний день достаточно подробно исследован CO_2 -концентрирующий механизм (КМ) в клетках микроводорослей, благодаря которому максимальные скорости фотосинтетического выделения кислорода при низких и высоких концентрациях CO_2 одинаковые [2]. Эффективность использования внутриклеточного углерода C_i повышается за счёт наличия внутриклеточного пула, в котором C_i представлено в форме гидрокарбонатов, и снижения потерь CO_2 из-за диффузионных процессов. В литературе приводятся описания CO_2 -КМ для разных видов микроводорослей. Большая часть исследований CO_2 -КМ выполнено на эукариотических клетках, у которых внутриклеточный пул C_i может находиться и в цитоплазме, и в строме хлоропласта [2]. Также описан CO_2 -КМ для цианопрокариот [3], у которых в цитоплазме не обнаружен ключевой фермент CO_2 -КМ – карбоангидраза (КА). Многочисленные исследования хлоропластов показали присутствие КА как в мембранах, так и в строме. C_i из внутриклеточного пула поступает в карбоксисому, где за счёт работы КА в зоне активного центра РБФК преобразуется в углекислоту.

Понимание путей метаболизма углерода у цианобактерий имеет важнейшее прикладное значение, например, при разработке технологий использования щелочных водоёмов, при алголизации почв, при очистке сточных вод, а также при культивировании цианобактерий в промышленных масштабах (спирулина, носток и др.). При интенсивном культивировании спирулины (*Arthrospira platensis*) одним из ключевых факторов, определяющих форму кривой роста, является углеродное обеспечение. При оптимальных световых и температурных условиях скорость роста будет определяться концентрацией биогенных элементов в питательной среде. Обычно при выращивании спирулины используется питательная среда Заррук [4], основным элементом которой является гидрокарбонат натрия. Способность клеток *A. platensis* выдерживать высокие величины pH позволяет культивировать спирулину без дополнительной подачи CO_2 , что значительно упрощает лабораторные исследования и удешевляет промышленное культивирование данного объекта. Без дополнительной подачи CO_2 в культуру единственным источником углерода является гидрокарбонат-ионы. Известно, что из-за высокого начального содержания соды в питательной среде именно поглощение гидрокарбонат-ионов клетками определяет динамику pH в накопительной культуре. При высоких значениях pH среды (>11) углерод представлен в растворе только карбонат-ионами [3].

Несмотря на то, что вопросам ассимиляции углерода клетками цианопрокариот уделено достаточно большое внимание, практически нет упоминаний об ассимиляции карбонат-ионов. Возможно, карбонат-ион, при участии экстрацеллюлярной КА, находящейся в слое экзополисахаридов в локальных зонах закисления [3], преобразуется в гидрокарбонат-ион и CO_2 , которые согласно вышеуказанному механизму поступают в клетку.

Работа выполнена в рамках госзадания по теме НИР ФИЦ ИнБЮМ № 0828-2018-0004.

1. Стуколова И.В., Тренкеншу Р.П. Основные типы питания водорослей (краткий глоссарий) // Вопросы современной альгологии, 2020, № 1 (22), с. 34-38, DOI: 10.33624/2311-0147-2020-1(22)-34-38.
2. Пронина Н.А. Организация и физиологическая роль CO₂-концентрирующего механизма // Физиология растений, 2000, т. 47, № 5, с. 801-810.
3. Price G.D., Badger M.R., Woodger F.J., Long B.M. Advances in understanding the cyanobacterial CO₂-concentrating-mechanism (CCM): functional components, C_i transporters, diversity, genetic regulation and prospects for engineering into plants // J. Exp. Bot., 2008, vol. 59, no. 7, pp. 1441-1461, DOI: 10.1093/jxb/erm112.
4. Zarrouk C. Contribution a l'étude d'une cyanophycee. Influence de divers physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima: Paris: Ph.D. thesis, 1966, 138 p.

МОДЕЛИРОВАНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО НАРУШЕНИЯ НЕЙРОГЕНЕЗА ВЗРОСЛЫХ ВСЛЕДСТВИЕ ОСТРОГО ОБЛУЧЕНИЯ РЕНТГЕНОВСКИМИ ЛУЧАМИ ГИППОКАМПА МЫШЕЙ C57BL

Modeling of Short-Term Impairment of Adult Neurogenesis Due to Acute X-ray Exposure of the Hippocampus of C57BL Mice

Глебов А.А., Колесникова Е.А., Бугай А.Н.

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, РФ, glebov.atth@gmail.com

Применение лучевой терапии головного мозга для лечения онкологических заболеваний вызывает долгосрочные нарушения памяти у пациентов всех возрастов [1]. Одним из факторов развития подобных нарушений является радиационно-индуцированная гибель клеток, участвующих в процессе нейрогенеза взрослых в зубчатой извилине гиппокампа мозга. Из-за сложности экспериментального изучения действия облучения на нейрогенез у людей для радиационных исследований учёные используют мышей, поскольку они обладают схожей архитектурой головного мозга.

При изучении нарушения нейрогенеза у мышей при облучении рентгеновскими лучами было обнаружено, что краткосрочным эффектом действия облучения является гибель радиочувствительных популяций клеток-предшественников: амплифицирующих нейрональных предшественников (АНП), нейробластов, незрелых нейронов и, в меньшей степени, нервных стволовых клеток (НСК) [2,3]. При этом остаётся неизвестным, как краткосрочный эффект гибели клеток-предшественников влияет на прирост новообразованных зрелых нейронов, астроцитов и олигодендроцитов, образующихся в результате дифференциации клеток-предшественников.

Для моделирования краткосрочных эффектов гибели клеток после острого облучения рентгеновскими лучами мы использовали разработанную нами модель нейрогенеза взрослых, в которой учтены популяции как клеток-предшественников, так и зрелые типы клеток [4, 5]. Влияние острого облучения рентгеновскими лучами моделируется согласно схеме, описанной в работе [6]. Характеристические дозы облучения для НСК и АНП взяты из работы [3], для нейробластов и незрелых нейронов – на основе перерасчёта характеристических доз из работы [2].

В результате впервые рассчитаны доли выживших новообразованных астроцитов, олигодендроцитов и зрелых нейронов после острого облучения на 45 день жизни мыши дозами 0, 1, 5 и 10 Гр. Графики показывают уменьшение числа выживших клеток с увеличением дозы излучения (рис. 1). Астроциты меньше всего подвержены краткосрочному влиянию радиации, поскольку их численность практически не меняется в течение первого месяца после облучения. Для зрелых нейронов и олигодендроцитов дозы больше 5 Гр значительно модифицируют кривую выживаемости, а в течение первого месяца жизни прирост новых клеток практически не наблюдается. Прежний уровень нейро- и глиогенеза не восстанавливается в течение всей жизни мыши, составляющей порядка 900 дней.

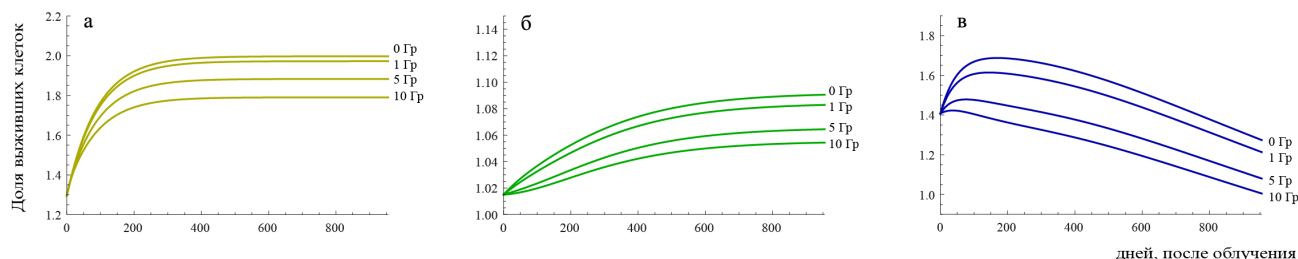


Рисунок 1. Относительная доля выживших а – астроцитов, б – олигодендроцитов, в – зрелых нейронов после острого облучения на 45 день жизни мыши. Дозы рентгеновского излучения составили 0, 1, 5, 10 Гр

1. Smith M.A. et al. Principles and practice of pediatric oncology. Edited by: Pizzo P, Poplack GD, 2002.
2. Mizumatsu S. et al. Extreme sensitivity of adult neurogenesis to low doses of X-irradiation // Cancer research, 2003, vol. 63, no. 14, pp. 4021-4027.
3. Mineyeva O.A. et al. Radiation induces distinct changes in defined subpopulations of neural stem and progenitor cells in the adult hippocampus // Frontiers in neuroscience, 2019, vol. 12, pp. 1013.
4. Глебов А.А., Колесникова Е.А., Бугай А.Н. Математическое моделирование нейрогенеза взрослых с учётом предшественников олигодендроцитов // Медицинская и радиационная биофизика: сборник трудов XXVIII Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование» (25–30 января 2021 г.), с.126.
5. Глебов А.А., Колесникова Е.А., Бугай А.Н. Математическая модель нейрогенеза взрослых с учётом популяции зрелых нейронов // Математика и математическое моделирование: Сборник материалов XV Всероссийской молодёжной научно-инновационной школы (13–15 апреля 2021 г.), с. 123-124.
6. Casao E., Cucinotta F.A. Modeling impaired hippocampal neurogenesis after radiation exposure // Radiation research, 2016, vol. 185, no. 3, pp. 319-331.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТВЕТА ФАГОЦИТОВ КРОВИ НА МИКРОБНУЮ ПРОВОКАЦИЮ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Mathematical Modeling of Blood Phagocyte Response to Microbial Provocation in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

Гриневич А.А.¹, Тихонова И.В.¹, Гусева И.Е.², Сафронова В.Г.¹

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, *grin_aa@mail.ru*

² Больница Пущинского научного центра РАН, г. Пущино, РФ

Окислительный стресс как дисбаланс между производством и утилизацией активных форм кислорода (АФК) играет важную роль в развитии острого и хронического воспаления при разных патологиях, в частности, при диабете. Избыточное высвобождение АФК, катализируемое НАДФН-оксидазой в фагоцитах крови при микробной провокации, вносит значительный вклад в формирование окислительного стресса, приводящего к осложнениям при сахарном диабете 2 типа (СД2Т). Кинетика ответа на микробные частицы в крови у пациентов с СД2Т не изучена. В работе проведен теоретический анализ регуляторных механизмов генерации АФК при СД2Т.

Разработанная нами математическая модель описывает кинетику респираторного взрыва фагоцитов крови у здоровых добровольцев и больных СД2Т. В модели рассмотрены четыре состояния нейтрофилов в популяции (Схема): (I) – покой, (II) – взаимодействие с патогеном и его захват, сборка комплексов НАДФН-оксидазы, что ведет к переходу нейтрофилов в I или III состояние; (III) – активированные клетки, интенсивно продуцирующие супероксид-анион радикал, возможен переход во II или IV состояние (апоптоз/некроз или нетоз).

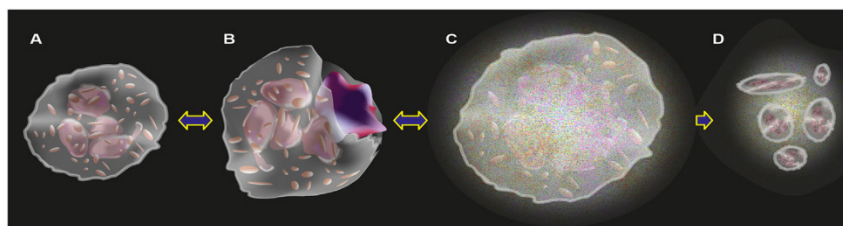


Рисунок 1. Схема состояний нейтрофилов, описанная в математической модели. (А) Покоящийся нейтрофил, I состояние. (В) Нейтрофил, взаимодействующий с патогеном, II состояние. (С) Активированный нейтрофил, III состояние. (D) Инактивация/гибель нейтрофила, IV состояние

В соответствии с оценкой коэффициента детерминации $R^2 = 1$ модель хорошо описывает экспериментальные хемилюминесцентные кривые (ХЛ-кривые) кинетики респираторного взрыва. Модель прояснила связь кинетических параметров со стадиями фагоцитоза в крови и причинами изменения кинетики генерации АФК при СД2Т. Увеличение амплитуды ответа на опсонизированный зимозан у пациентов было связано с повышением параметров, определяющих способность к фагоцитозу, снижением смертности фагоцитов и/или нарушением антиоксидантных систем. Кроме того, увеличение амплитуды сопровождалось увеличением скорости ответов. Таким образом, повышение фагоцитарной способности приводило также к увеличению скорости ответных реакций при диабете. Острая гипергликемия в крови здоровых добровольцев изменяла синхронизацию сборки комплексов НАДФН-оксидазы и выработку супероксида таким же образом, как и хроническая при диабете. Это объясняло, почему скорость ответов является значимым предиктором, который, как и амплитуда ответов, является наиболее чувствительным и специфичным параметром кинетики респираторного взрыва нейтрофилов, позволяющим отличать пациентов от здоровых испытуемых [1]. Баланс между снижением синхронизации и увеличением выработки супероксида смещался в сторону снижения

синхронизации в контроле при высокой глюкозе (22 ммоль/л), в то время как при диабете он исходно был смещен в сторону увеличения выработки супероксида. Другим важным параметром была скорость сборки НАДФН-оксидазы: ее снижение приводило к увеличению лаг-периода. С помощью модели была показана более низкая скорость сборки НАДФН-оксидазы у пациентов по сравнению с контролем при нормальной и высокой концентрации глюкозы. Это согласуется с увеличением лаг-периода ответа у пациентов, показанного экспериментально [1].

Таким образом, разработанная нами математическая модель ответа фагоцитов крови на микробную провокацию позволила выявить скрытые механизмы АФК-зависимого фагоцитоза и связать изменение кинетических параметров респираторного взрыва нейтрофилов с нарушениями молекулярного механизма выработки супероксида у больных СД2Т.

1. Tikhonova I.V., Grinevich A.A., Guseva I.E., Safronova V.G. Modified kinetics of generation of reactive species in peripheral blood of patients with type 2 diabetes // Free Radical Biology and Medicine, 2020, vol. 159, pp. 76-86.

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕТОДОМ КИНЕТИЧЕСКОГО МОНТЕ-КАРЛО ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА В ФОТОСИСТЕМЕ II

Simulation by Kinetic Monte Carlo Method of Primary Processes of Photosynthesis in Photosystem II

Губарев А.А., Чуфицкий С.В., Романчук С.М.

Донецкий национальный университет, г. Донецк, Украина, *Gubarev_A_A_@mail.ru*

В настоящее время для мониторинга состояния природных объектов широко применяются различные методы флуориметрии, в частности ОЛР-тест. Для интерпретации полученных при помощи ОЛР-теста данных используются кинетические модели фотосистемы, основанные на системах обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ), и модели, основанные на методе Монте-Карло. В методе кинетического Монте-Карло взаимодействие разных участков электрон-транспортной цепи описывается при помощи правил, задающих результат взаимодействия ближайших элементов этой цепи и скорости этих взаимодействий [1].

В основе используемой в данной работе модели лежат следующие упрощающие предположения, которые позволяют исследовать изменение кривой переменной флуоресценции и концентраций переносчиков электронов в зависимости от констант важнейших скоростных реакций.

1. Основной вклад в флуоресценцию даёт фотосистема II (ФС II). Поэтому модель учитывает только флуоресценцию ФС II. Взаимодействие ФС II с Цит *b₆f* комплексом определяется скоростью реакции возвращения пластохинонов в пул свободных пластохинонов.

2. Несмотря на достигнутые результаты [2, 3], детали первичного разделения зарядов и работы кислород-выделяющего комплекса (КВК) всё ещё не достаточно изучены. Поэтому в модели в качестве единого компонента рассматривался «реакционный центр» (РЦ), состоящий из P_{D1} , Chl_{D1} , $Pheo_{D1}$, КВК и светособирающего комплекса (ССК). Скорость перехода этого комплекса в возбуждённое состояние определяется мощностью фотосинтетически активного падающего света (и поверхностной концентрацией ССК), а скорость возвращения в исходное невозбуждённое состояние (после передачи электрона пластохинону Q_A) – скоростью передачи электрона от КВК к РЦ.

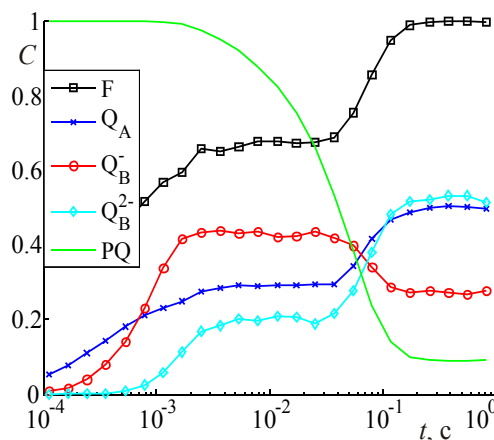


Рисунок 1. Нормированная на максимум флуоресценция F , концентрации переносчиков заряда Q_A^- , Q_B^- , Q_B^{2-} и нормированное на максимум число пластохинонов в пуле PQ как функции времени

При задании значений скоростей реакций $Q_A^- + Q_B^- \rightarrow Q_A + Q_B^-$, $Q_A^- + Q_B^- \rightarrow Q_A + Q_B^{2-}$ и скоростей обратных реакций к этим, скорости $Q_B^{2-} \rightarrow Q_B + PQ$ протонирования Q_B^{2-} с образованием пластохинола, высвобождения и замены на пластохинон из пула свободных пластохинонов $Q_B^{2-} + PQ \rightarrow Q_B + QH_2$, а также скорости возвращения пластохинона в пул свободных пластохинонов после взаимодействия пластохинола с Цит b_6/f комплексом $QH_2 \rightarrow PQ$ значений близких, к указанным в литературных источниках, на кривой переменной флуоресценции (КПФ) формируются точки I и P в близкие к наблюдаемым в эксперименте моменты.

Моделируемая система составляла 20 тысяч ФС II. В процессе моделирования сохранялись значения не только флуоресценции, но и концентраций переносчиков электронов Q_A^- , Q_B^- , Q_B^{2-} — числа переносчиков на один РЦ и нормированное на максимум число пластохинонов PQ.

Достижение максимума КПФ обычно связывают с закрытием всех РЦ. Моделирование показало, что достижение максимума может происходить и в случае, когда заметная часть РЦ остаётся открытой. Пример приведен на рисунке 1.

1. Маслаков А.С. Описание процессов в ансамблях фотосинтетических реакционных центров с помощью кинетической модели типа Монте-Карло // Компьютерные исследования и моделирование, 2020, т. 12, с. 1207-1221. doi: 10.20537/2076-7633-2020-12-5-1207-1221

2. Holzwarth A.R., Müller M.G., Reus M. et al. Kinetics and mechanism of electron transfer in intact photosystem II and in the isolated reaction center: Pheophytin is the primary electron acceptor // Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 2006, vol. 103, no. 18, pp. 6895-6900. doi: 10.1073/pnas.0505371103

3. Davis K.M., Sullivan B.T., Palenik M.C., Yan L., Purohit V., Robison G., Kosheleva I., Henning R.W., Seidler G.T., Pushkar Y. Rapid evolution of the photosystem II electronic structure during water splitting // Phys. Rev. X, 2018, vol. 8, p. 041014. doi: 10.1103/PhysRevX.8.041014

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ СКОРОСТИ СДВИГОВОЙ ДЕФОРМАЦИИ НА АДГЕЗИВНО-АГРЕГАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ

Analysis of the Influence of the Rate of Shear Deformation on the Adhesive and Aggregating Properties of Red Blood Cells

Жуковская А.А., Удут В.В., Демкин В.П.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, nastyal20498z@mail.ru

Медицинские и биохимические исследования последних десятилетий привели к значительным успехам в развитии теоретических методов и экспериментальных средств для изучения гемореологии. Необходимым является глубокое понимание взаимодействия компонентов крови, которые оказывают влияние на ее вязкоупругие свойства.

Изучение реологического поведения крови очень важно для понимания кровотока, что помогает выявлять и, следовательно, лечить сердечно-сосудистые заболевания. Математическое моделирование процессов гемокоагуляции позволит актуализировать и дополнить данные о характере изменений вязкоупругих характеристик при образовании тромба и о механизмах изменения гемостатического потенциала при различных патологических состояниях организма.

Основным методом, используемым для получения существующих моделей вязкости, является параметрическая кривая, соответствующая экспериментальным данным о кажущейся вязкости в зависимости от скорости сдвига. Зависимость вязкости крови от каждого реологического свойства крови должна быть исследована и уточнена отдельно путем выделения влияния остальных реологических свойств.

Экспериментальные исследования показали, что кровоток проявляет неньютоновское поведение. На его реологию влияют многие факторы: вязкость плазмы, уровень агрегации и деформируемости эритроцитов, количество фибриногена, геометрия и размер сосуда, скорость сдвига, гематокрит, температура и др. Анализ реологического поведения крови, как и любой неньютоновской жидкости, основан на зависимости между вязкостью и скоростью сдвига [1].

Для построения кривой зависимости вязкости было выделено три области: при низких скоростях сдвига ($20-90 \text{ c}^{-1}$), средних ($100-150 \text{ c}^{-1}$) и высоких ($150-200 \text{ c}^{-1}$). При более высоких значениях кровь становится ньютоновской жидкостью. В каждой из выбранных областей была использована наиболее подходящая модель.

В первую модель включена константа релаксации структуры крови. Вторая модель выполняется при высоких скоростях сдвига и описывает нелинейно пластичную жидкость. Третья – учитывает величину гематокрита.

Неньютоновское поведение крови в реальных потоках сильно отличается от соответствующего поведения в установившемся потоке. Поэтому при моделировании гемодинамики, зависящей от времени, необходимо учитывать реологическую модель, максимально соответствующую реальным клиническим условиям.

1. Yilmaz F., Gundogdu M. A critical review on blood flow in large arteries; relevance to blood rheology, viscosity models, and physiologic conditions // Korea-Australia Rheology Journal, 2008, vol. 20, no. 4, pp. 197-211.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА СИНТЕЗА СУЛЬФИДОВ ЦИНКА В ПРИСУТСТВИИ МОЛЕКУЛ ФЛАГЕЛЛИНА Molecular Dynamics Simulation of Metal Sulfides Processing in Presence of Flagellin

Жулидин П.А., Филин П.Д., Пластун И.Л.

Саратовский государственный технический университет имени Ю.А. Гагарина, г. Саратов, РФ, zhulidin@mail.ru

Наночастицы сульфидов металлов – один из перспективных материалов в биофотонике и оптоэлектронике. Наночастицы сульфидов кадмия CdS и цинка ZnS находят применение в биомедицине в качестве флуоресцентных меток для прижизненной визуализации различных биопроцессов. Одной из возможностей получения наночастиц сульфида цинка является биосинтез на основе бактериальных культур *Bacillus subtilis 168* [1]. Особенностью использования этих бактерий для получения наночастиц сульфида цинка посредством биосинтеза является то, что единственным белком, участвующим в процессе синтеза и адсорбируемым на поверхности частиц, является флагеллин. Флагеллин присутствует в жгутиках бактерий. Благодаря уникальным характеристикам белка обусловлена его подвижность, с помощью которой он может организовываться в полые цилиндрические структуры.

Метод молекулярной динамики, реализованный в программном пакете GROMACS [2], был использован нами для изучения поведения флагеллина в водных растворах в присутствии ионов хлора и цинка в соли рабочего раствора. Ранее нами был проведен анализ водородных связей аминокислот флагеллина и ионов серебра при образовании наночастиц сульфидов серебра. Была выявлена существенная роль нестандартной аминокислоты метилизина в процессе водородного связывания при формировании наночастиц сульфида серебра [3]. В случае сульфида цинка мы ожидаем, что влияние также будет существенно. Рассчитанная нами структура флагеллина 6GOW показана на рисунке 1а. Аминокислотная последовательность взята из международной базы данных белков RCSB PDB.

На основе анализа среднего радиуса гирации и распределения заряда изучена динамика молекул флагеллина. Было обнаружено, что в растворе, содержащем ионы хлора и цинка, средний радиус гирации постепенно уменьшается, указывая на то, что молекула постепенно скручивается. Зависимость радиуса гирации от времени до и после добавления ионов цинка показана на рисунке 1б.

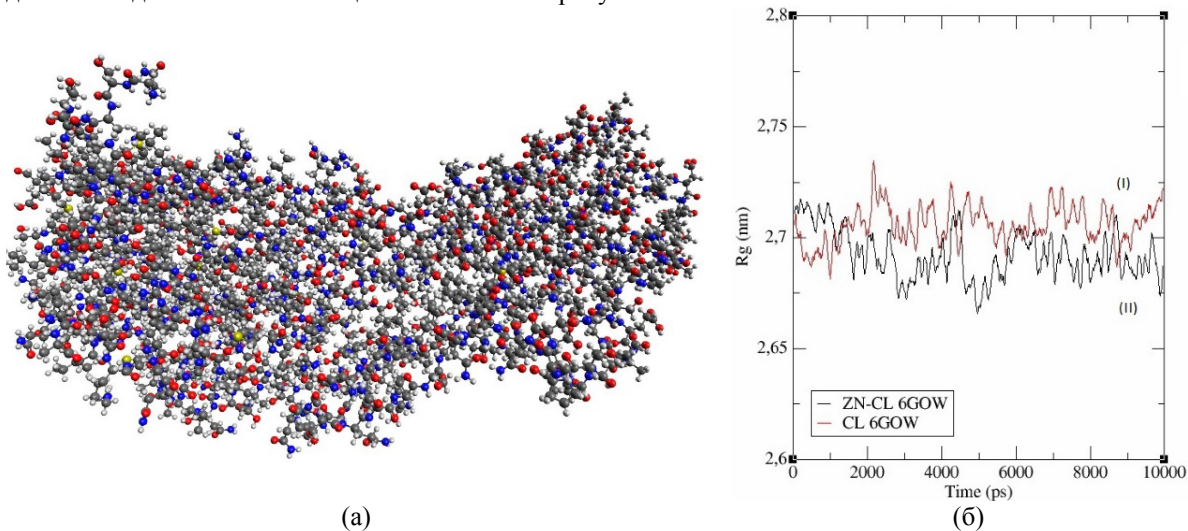


Рисунок 1. Рассчитанная молекулярная структура флагеллина (а) и радиус гирации флагеллина (б) в присутствии ионов хлора (б, (I)) и ионов хлора и цинка (б, (II))

В результате исследования траектории движения молекулы флагеллина было замечено, что в присутствии ионов цинка радиус гирации флагеллина уменьшился. Это указывает на то, что возникают электростатическое взаимодействие на основе образования многочисленных водородных связей между ионами цинка и аминокислотами флагеллина, вследствие чего уменьшается подвижность молекул, что и помогает формированию наночастиц сульфида цинка.

1. Журавлева О.А., Воейкова Т.А., Хаддаж М.Х. и др. Бактериальный синтез наночастиц сульфидов кадмия и цинка. Характеристика и перспектива их применения // Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. 2018. № 36 (4), с. 191-198.

2. Gromacs. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.gromacs.org/About_Gromacs.

3. Пластун И.Л., Захаров А.А., Наумов А.А. и др. Спектральные проявления молекулярных механизмов образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза // Оптика и спектроскопия, 2021, т. 129, вып. 6, с. 717-726.

МОДЕЛИРОВАНИЕ БИМИНЕРАЛИЗАЦИИ ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ В ПРИСУТСТВИИ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ (ГК) В СИСТЕМЕ $\text{CaCl}_2\text{-(NH}_4\text{)}_2\text{HPO}_4\text{-ГК-H}_2\text{O}$
Simulation of Calcium Hydroxyapatite Biom mineralization in Presence of Hyaluronic Acid (HA) in System $\text{CaCl}_2\text{-(NH}_4\text{)}_2\text{HPO}_4\text{-HA-H}_2\text{O}$

Захаров Н.А.¹, Коваль Е.М.¹, Орлов М.А.¹, Шелехов Е.В.², Алиев А.Д.³, Захарова Т.В.⁴, Киселёв М.Р.³, Матвеев В.В.³

¹ Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова, г. Москва, РФ, *zakharov@igic.ras.ru*

² НИТУ «МИСиС», г. Москва, РФ

³ Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина, г. Москва, РФ

⁴ Российский университет транспорта «МИИТ», г. Москва, РФ

Определено влияние гиалуроновой кислоты (ГК) на осаждение гидроксиапатита кальция ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ГА) в водной системе $\text{CaCl}_2\text{-(NH}_4\text{)}_2\text{HPO}_4\text{-ГК-H}_2\text{O}$ (25°C), получены наноразмерные органоминеральные композиционные материалы (КМ) ГА/ГК составов $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2\text{-(ГК)}_x\text{-zH}_2\text{O}$, где $x = 0,1, 0,2, 0,3$; $z = 5,3-10,0$, методами физикохимические характеристики синтезированных КМ ГА/ГК, установлены фундаментальные взаимосвязи состав – структура – свойства и способы направленного синтеза КМ ГА/ГК.

Гиалуроновая кислота (ГК), компонент внеклеточного матрикса, является высокомолекулярным гликозаминогликаном, который состоит из повторяющихся дисахаридов N-ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты (рис. 1). Эта относительно простая структура не изменилась при эволюционном развитии, и одинакова у всех млекопитающих. Это позволяет предположить, что ГК является биологической молекулой особой важности. В организме ГК присутствует в форме соли, гиалуроната, и обнаружена в высоких концентрациях в некоторых мягких соединительных тканях, в составе кожи, пуповины, синовиальной жидкости, и стекловидного тела. Значительное количество ГК найдено также в легких, почках, головном мозге, и мышечных тканях. При промышленном производстве ГК обычно экстрагируется из гребня петуха и человеческой пуповины, или же производится в больших количествах путем бактериальной ферментации.

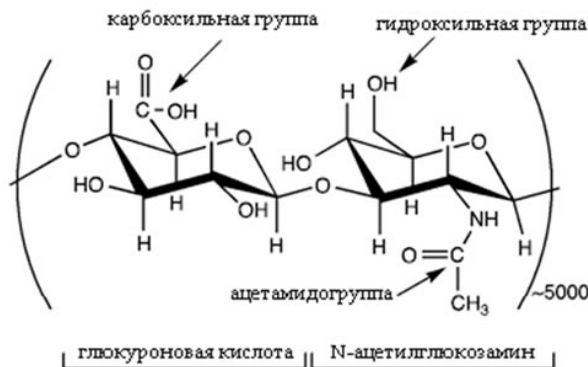


Рисунок 1. Структура природной ГК – биополимера, состоящего из повторяющихся дисахаридов, включающих в себя N-ацетилглюкозамин и глюкуроновую кислоту. Молекулярный вес нативной ГК обычно составляет несколько миллионов. Каждый дисахаридный мономер ГК содержит три возможных участка для модификации: гидроксильную, карбоксильную группы и ацетамидогруппу

Структура ГК обеспечивает уникальные физико-химические и биологические свойства, которые находятся в зависимости от молекулярного веса. Если экстрагировать ГК из тканей, она полидисперсна по размеру, со средним молекулярным весом в несколько миллионов. Вторичные водородные связи формируются вдоль оси гиалуроновой кислоты, обеспечивая стабильность и формируя гидрофобные участки, благодаря чему гиалуроновая кислота организуется в упорядоченные структуры. Раствор гиалуроновой кислоты обладает высокой вязкоэластичностью, другими словами, при увеличении скорости сдвига цепи гиалуроновой кислоты выстраиваются по направлению движения, что приводит к снижению вязкости раствора.

Создание КМ на основе гидроксиапатита кальция ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ГА) – кристаллохимического аналога неорганической компоненты костной ткани млекопитающих и биополимеров является актуальным направлением разработки материалов костных имплантатов с улучшенными характеристиками.

Разработан метод направленного синтеза КМ ГА/ГК из водных растворов $\text{CaCl}_2\text{-(NH}_4\text{)}_2\text{HPO}_4\text{-ГК-H}_2\text{O}$ (25°C) и получены наноразмерные органоминеральные КМ ГА/ГК составов ГА/ГК, содержащих 0,1, 0,2, 0,3 масс. % ГК.

С использованием ряда методов физико-химического определены характеристики продуктов синтеза, проанализированы фундаментальные взаимосвязи состав – условия синтеза – структура – дисперсность – свойства КМ ГА/ГК и показано, что реализованный подход позволяет осуществлять направленный синтез КА ГА/ГК составов $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2(\text{ГК})_x \cdot z\text{H}_2\text{O}$, где $x = 0,1, 0,2, 0,3$; $z = 5,3-10,0$ с регулируемыми в ходе синтеза и последующей обработки размером и морфологией нанокристаллов ГА.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИОХ РАН в области фундаментальных научных исследований.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕТИЛЛИЗИНА И СОЛЕЙ РАБОЧЕГО РАСТВОРА В ХОДЕ БИОСИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ СУЛЬФИДА ЦИНКА И СУЛЬФИДА СЕРЕБРА: МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Comparative Analysis of Interaction Methyllisine and Working Solution Salts during Zinc Sulphide and Silver Sulfide Nanoparticles Biosynthesis: Molecular Modeling

Захаров А.А., Пластун И.Л., Наумов А.А.

Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина, г. Саратов, РФ, wolfserk@mail.ru

В последние десятилетия особое внимание привлекают наночастицы полупроводников сульфидов металлов. Одной из причин является перспективы их применения в электролюминесцентных источниках света, нанoeлектронике, в солнечных элементах, фотокатализе, а также в биологии и медицине [1].

Целью данной работы является сравнение результатов моделирования взаимодействия белковых структур с солями растворов, используемых для получения наночастиц сульфида цинка и сульфида серебра. В качестве исследуемого белка рассматривается бактериальный белок флагеллин, поскольку, как показано в экспериментальном исследовании [1], при биосинтезе с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168 только этот белок сорбируется на поверхности получаемых наночастиц и, таким образом, является одной из важнейших составляющих процесса бактериального синтеза.

Изучаемые объекты: нитрат цинка $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, нитрат серебра AgNO_3 , тиосульфат натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, а также нестандартная аминокислота метиллизин $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_2$, входящая в состав флагеллина и играющая ключевую роль в процессе скручивания флагеллина.

Ранее нами были изучены механизмы межмолекулярного взаимодействия элементов, участвующих в ходе биосинтеза наночастиц сульфида серебра [2]. Выяснилось, что метиллизин образует достаточно устойчивые молекулярные комплексы с тиосульфатом натрия и нитратом серебра на основе водородных связей средней силы и близким к сильным, что даёт возможность говорить о его существенном вкладе в процесс образования наночастиц сульфида серебра методом биосинтеза с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168.

Моделирование производилось при помощи программного комплекса Gaussian 09. Сравнивались частотные характеристики образующейся водородной связи: частотный сдвиг, энергия связи, интенсивность ИК спектра. Сила водородной связи оценивалась по величине частотного сдвига.

Таблица 1. Характеристики вариантов молекулярных комплексов $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ – метиллизин/ AgNO_3 – метиллизин

Но-мер связи	Частота ν , cm^{-1}	Частотный сдвиг $\Delta\nu$, cm^{-1}	Энергия связи $-\Delta H$, ккал/ моль	Интенсивность I_{IR} , км/моль
1	3153/3273	372/252	5,47/4,37	1210/1312
2	3722/3552	270/440	4,55/6,01	1075/1375
3	3318/3236	42/124	0,42/2,75	23/240
4	3467/3231	46/282	0,73/4,67	35/725

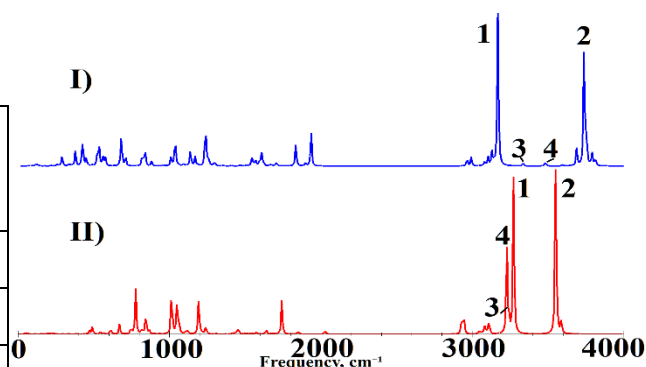


Рисунок 1. Комбинированные спектры молекулярных комплексов I) $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ –метиллизин, II) AgNO_3 – метиллизин

В ходе сравнительного анализа четырёх вариантов соединения (табл. 1, рис. 1) в молекулярных комплексах было обнаружено, что для AgNO_3 все четыре связи относятся к средним (частотный сдвиг более 100 cm^{-1}), в то время как для $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ из четырёх образующихся связей только две средние, остальные слабые (частотный сдвиг менее 50 cm^{-1}). Это может свидетельствовать о том, что нитрат цинка обладает меньшей способностью с комплексообразованию с метиллизином по сравнению с нитратом серебра. Косвенно об этом свидетельствует и

меньший размер образующихся наночастиц: у сульфида серебра размер частиц составляет 10 нм, у сульфида цинка – 2 нм [1].

Таким образом, можно говорить о меньшем вкладе метиллизина в процесс синтеза наночастиц сульфида цинка, чем в синтез наночастиц сульфида серебра, что приводит к снижению степени скручивания белка и существенному уменьшению размера синтезируемых наночастиц.

1. Журавлева О.А., Воейкова Т.А., Кедик С.А. и др. Перспектива применения биогенных квантовых точек наночастиц сульфидов серебра, кадмия и цинка для создания полимерных бionанокomпозитных материалов // Тонкие химические технологии, 2019, т. 14, № 3, с. 50. doi: 10.32362/2410-6593-2019-14-3-50-59

2. Пластун И.Л., Захаров А.А., Наумов А.А. и др. Спектральные проявления проявления молекулярных механизмов образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза // Оптика и спектроскопия, 2021, т. 129, вып. 6, с. 717-726.

ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕНГМЮРОВСКИХ МОНОСЛОЕВ ФОСФОЛИПИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МЕМБРАН ТЕСТ-КУЛЬТУРЫ *E. COLI* K- 12

Research of Lengmuir Monolayers of Phospholipids Isolated from Test-Culture Membranes *E. Coli* K-12

Зубова К.В., Кузнецова В.А., Аль-Альвани А.Ж., Глинская Е.В., Глуховской Е.Г.

Саратовский национальный исследовательский государственный университет, г. Саратов, РФ,

zubovaksushechka@mail.ru

В настоящей работе были проведены исследования ленгмюровских монослоев нативных фосфолипидов, выделенных из клеточных мембран тест-культуры *E.coli* K-12. Для формирования монослоя рабочий раствор нативных фосфолипидов в хлороформе с концентрацией $C = 10^{-4}$ М вносили на поверхность воды в количествах $V = 50, 100$ и 150 мкл. Монослои исследовали методом изотерм сжатия [1], графики которых и зависимости модуля сжатия от удельной площади представлены на рисунке 1.

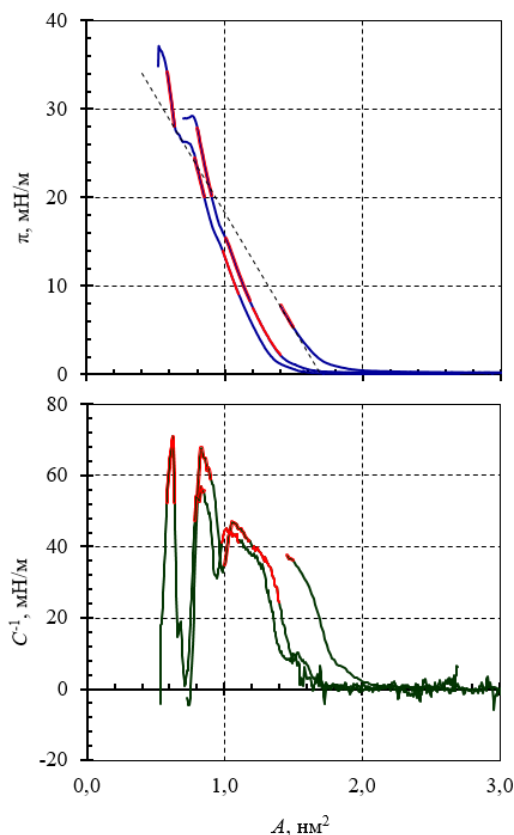


Рисунок 1. Изотермы (вверху) и модуль сжатия (внизу) монослоев

На графике зависимости давления и модуля сжатия от удельной площади можно видеть 3-4 участка, которые соответствуют состояниям молекул с плотной упаковкой. Диапазоны удельных площадей, на которых формируются эти состояния, $A = 0,58-0,64$; $0,78-0,85$; $0,98-1,10$ нм². Видно, что самое плотное состояние формируется при минимальных значениях удельных площадей $A = 0,58-0,64$ нм², для которых модуль сжатия максимален $C^{-1} = 97$ мН/м, а рассчитанное A_0 в этом состоянии имеет величину около $0,90$ нм². Полученные значения для этого состояния имеют величины модуля сжатия меньше, чем для типичных фосфолипидов или классических ПАВ. Кроме того, по приведенным зависимостям видно, что существуют как минимум еще три состояния, в которых молекулы монослоя упаковываются в плотные структуры. На этих участках модуль сжатия имеет локальные максимумы, свидетельствующие о повышении механической прочности монослоя и его высокой стабильности.

1. Qassime M.M. et al. A studying of subphase temperature and dissolved ascorbic acid concentration influence on the process of Langmuir monolayer formation // J. Phys.: Conf. Ser., 2018, vol. 1124, p. 031010.

IMPLEMENTATION OF SUPERVISED LEARNING ALGORITHMS FOR PREDICTING OF COUPLED CHEMICAL OSCILLATORS

Zuniga Mora A., Arzola Flores J.A., Vidal Robles E., Hernandez Santiago A.A., Rojas Rodriguez J.F.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico, *jesus.arzola@correo.buap.mx*

It is well known that physiological processes are the consequence of an intricate network of chemical reactions [1]. Therefore, it is difficult to understand in-depth the complex dynamics that underlie these physiological processes, the way in which they are coupled and how there are mismatches in their coupling. They can give rise to various pathologies [1].

Today, thanks to the development of artificial intelligence, it is possible to train theoretical-computational algorithms to provide them with a certain learning capacity, in order to contribute to the diagnosis of various pathologies [2]. The use of these algorithms could make it possible to understand the complex dynamics that underlie the synchronization phenomena between physiological processes [2].

A new methodology for the prediction of coupled chemical oscillators is proposed. These oscillators emulate the dynamics of different chemical reactions related to physiological processes. Here we propose the linear bidirectional coupling between three chemical oscillators. The numerical solution of the coupled models allowed us to obtain the recurrence diagrams [4] of said coupled oscillators, which were used to train a multilayer perceptron neural network (MLP) [5] to predict the type of coupled oscillators. Finally, the results obtained by the MLP were compared with those obtained by one logistic regression model. In both models, it is possible to obtain accuracy in the classification of coupled oscillators above 90%. These results open the possibility of extending our methodology to the experimental field to contribute to the diagnosis of diseases related to synchronization and desynchronization processes of different physiological.

1. Costa L.D.F., Rodrigues F.A., Cristino A.S. Complex networks: the key to systems biology // Genetics and Molecular Biology, 2008, vol. 31 (3), pp. 591-601.

2. Ishak W.H.W., Siraj F. Artificial intelligence in medical application: An exploration // Health Informatics Europe Journal, 2002, vol. 16.

3. Arzola-Flores J.A., Vidal-Robles E., Rojas-Rodríguez J.F. et al. Sincronización en sistemas químicos // Revista Mexicana de Ingeniería Química, 2017, vol. 16 (3), pp. 883-898

4. Arzola-Flores J.A., García E.G., Rodríguez J.R. et al. Spatial and temporal dynamics of Belousov-Zhabotinsky reaction: A STEM approach // Revista Mexicana de Física E, 2020, vol. 17, pp. 178-190.

5. Arzola-Flores J.A., Rojas Rodríguez J.F., Vidal Robles E. Modified Oregonator: an Approach from the Complex Networks Theory // Revista mexicana de ingeniería biomédica, 2020, vol. 41 (3).

ОБЛАСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОРТОКРЕМНИЕВОЙ КИСЛОТЫ И СИЛИКАТЕИНА- α *T. Aurantium*

Interaction Regions of Orthosilicic Acid and Silicatein- α from *T. Aurantium*

Изотова Е.Д., Акберова Н.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, РФ, *izotova.e.d@gmail.com*

Технология управляемого синтеза кремнеземных структур является перспективной и в последнее время широко изучаемой областью биофизики, биохимии и молекулярной биологии [1].

Губки родов *Demospongiae* и *Hexactinellid* способны образовывать кварцевоподобные структуры - спикулы из растворенных кремниевых кислот при нормальном атмосферном давлении и температуре, в отличие от методов химического синтеза. Основную роль в процессе спикулогенеза отводят ферменту – силикатеину- α [1].

Предполагается, что силикатеин- α выполняет 3 функции, иницируя и направляя спикулогенез: первая – каталитическая, а вторая структурообразующая, третья – белок является поверхностью для адгезии кремниевых кислот.

Ранее продемонстрировано, что каталитической активностью могут обладать аминокислотные остатки Gln19, Ser25, His164. В то время как области адгезии кремниевых кислот на поверхности силикатеина- α остаются недостаточно изученными. Поэтому целью данной работы было выявить области взаимодействия молекул кремниевых кислот со структурой силикатеина- α методом молекулярного докинга.

В базе данных RCSB PDB представлена лишь одна модель структуры белка - силикатеина- α , выделенный из организма *T. Aurantium* (код 6ZQ3) [2]. Белок 6ZQ3 - это структура просиликатеина, имеющий как функциональный так и ингибиторный домен цистеиновых пептидаз C1, подсемейства C1A (семейство папаина). Молекула ортокремниевой кислоты была оптимизирована в программе PCGAMESS/Firefly методом теории функционала плотности с функционал X3LYP в базисе 6-31G(d)/6-311++G(2d,p). Молекулярный докинг проведен с помощью онлайн сервисов BSP-SLIM и ROSIE.

Обе программы показали сопоставимые результаты (рис. 1).

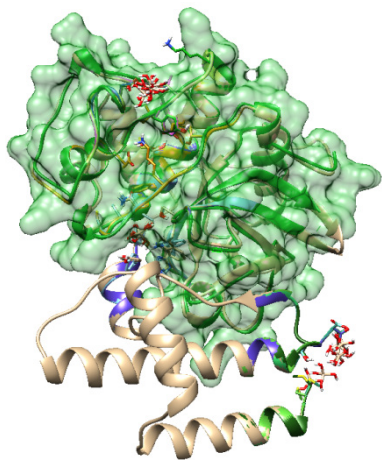


Рисунок 1. Области взаимодействия молекулы ортокремниевой кислоты с силикатеином- α

По данным молекулярного докинга можно выделить три области взаимодействия молекулы ортокремниевой кислоты и силикатеина- α : первая - область вблизи активного центра, затрагивающая аминокислотные остатки Gln19, Ser25, His164, Trp186; вторая область взаимодействия располагается с другой стороны белка и включает следующие аминокислотные остатки: Lys17, Lys 44, Thr14, Thr46, Met31, Tyr47, Glu35, Glu50, Asp85, Ala27, Phe28.

Первая и вторая области взаимодействия располагаются на разных сторонах молекулы белка, разделенные α -спиралями и β -складками. Во внутреннюю полость этих структур так же происходит докирование молекулы ортокремниевой кислоты.

Третьей областью взаимодействия является фрагмент структуры ингибиторного домена C1. Аминокислотные остатки которого являются: Met1, Asp68, Thr69. Взаимодействие молекул ортокремниевой кислоты с ингибиторным доменом C1 может носить регуляторный характер.

По результатам исследования можно предположить, что зрелый силикатеин- α имеет 2 области связывания с кремниевыми кислотами: первая располагается в области активного центра, вторая – с противоположной стороны.

1. Schroder H.C., Grebenjuk V.A., Wang X., Muller W.E. Hierarchical architecture of sponge spicules biocatalytic and structure-directing activity of silicatein proteins as model for bioinspired applications // *Bioinspiration & Biomimetics*, 2016, vol. 11, p. 041002. doi: 10.1088/1748-3190/11/041002

2. Görlich S., Samuel A.J., Best R.J. et al. Natural hybrid silica/protein superstructure at atomic resolution // *PNAS*, 2020, vol. 117, no. 49, pp. 31088-31093. doi: 10.1073/pnas.2019140117

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ GLY-PRO-ARG-PRO Structural Organization of the Gly-Pro-Arg-Pro Molecule

Исмаилова Л.И., Аббаслы Р.М., Ахмедов Н.А.

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

В настоящее время активно исследуется роль регуляторных пептидов в жизни и деятельности организмов. Выяснение структурно-функциональных свойств этих пептидов имеет большое прикладное значение в медицине и фармакологии. При создании новых лекарственных препаратов исследователи все чаще обращаются к использованию собственных резервов человеческого организма. Единый механизм регуляции функций объединяет нервную, эндокринную и иммунную системы, управляющие жизнедеятельностью организма [1].

Понять механизмы действия этих биомолекул можно, если решить задачу их структурно-функциональной организации. Целью данной работы является изучение пространственной структуры природной тетрапептидной молекулы Gly-Pro-Gly-Pro и ее аналога Gly-Pro-Arg-Pro. Следует отметить, что боковая цепь аминокислоты Pro жесткая, у Gly она отсутствует, боковая цепь Arg – длинная, лабильная, несет положительный заряд. Компьютерное моделирование, основанное на использовании метода теоретического конформационного анализа и программ, позволяющих получать графическое изображение пространственной структуры молекулы, было выполнено для данных молекул, содержащих четыре аминокислотных остатка. Метод теоретического конформационного анализа дает возможность рассчитывать трехмерную структуру пептидных молекул исходя из известной аминокислотной последовательности

Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учётом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Потенциальная энергия молекул рассматривалась как сумма невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Для тетрапептидных молекул были найдены низкоэнергетические конформации, значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий.

Определение пространственной структуры тетрапептида Gly-Pro-Gly-Pro мы начали с выяснения конформационных возможностей дипептидной молекулы Gly-Pro, затем трипептида Gly-Pro-Gly, и, наконец, всей тетрапептидной молекулы. Расчет данной дипептидной молекулы выполнялся на основе стабильных конформаций монопептидов N-ацетил-L-пролина и L-глицина. Для аминокислоты пролин учитывались R и B формы основной цепи. Остаток глицина в расчетах имел четыре формы основной цепи R, B, L, P. Так же для глицина в расчет были включены граничные начальные приближения углов φ , ψ . Для дипептида Gly-Pro, содержащего 27 атомов и 6 переменных двугранных углов, возможны 2 шейпа и 8 форм основной цепи. Конформационные возможности дипептидной молекулы определяются углами только основной цепи этих остатков: φ , ψ , ω .

Трипептидная молекула Gly-Pro-Gly имеет 34 атома и 9 переменных двугранных углов. Для нее возможны 32 формы основной цепи. Из них самую низкую энергию имеет RRB, которая имеет свернутую форму основной цепи. Тетрапептид Gly-Pro-Gly-Pro включает 48 атомов и 11 переменных двугранных углов. Было составлено свыше 200 начальных приближений, которые были проминимизированы по энергии. В результате только ограниченное число конформаций попадает в энергетический интервал 0 – 4 ккал/моль. Возможные структуры Gly-Pro-Gly-Pro описываются низкоэнергетическими конформациями свернутых RRRR, PRRB (fff) и полусвернутых LRRR (eff), RRBR (ffe) форм основной цепи.

Тетрапептид Gly-Pro-Arg-Pro имеет аминокислоту Arg, которая не может находиться в R форме, так как стоит перед Pro. Низкоэнергетическими для этого аналога являются конформации RRBR и RRBB, которые имеют полусвернутую основную цепь. Расчеты трехмерной структуры пептидных молекул позволяют определить геометрические и энергетические параметры пептидов, значения двугранных углов основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в молекулу, а также энергетические вклады внутримолекулярных взаимодействий. Для нахождения пространственного строения данных пептидных молекул использовалась специально разработанная программа [2]

1. Мартынова К.В., Андреева Л.А., Климова П.А. и др. Структурно-функциональные исследования глицин и пролин содержащих пептидов, являющихся нейропротекторами // Биоорг. хим., 2009, т. 35. № 2, с. 165-171.

2. Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М. Программа полумпирического расчета конформаций молекулярных комплексов на ЭВМ // Журнал структурной химии, 1983, т. 24, № 4, с. 147-148.

СЕЛЕКТИВНАЯ ПОВЕДЕНЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ TRICHOPLAX (PLACOZOA) НА RGB – СВЕТОВЫЕ СТИМУЛЫ

Selective Behavioral Response of Trichoplax (Placozoa) to RGB-Light Stimuli

Капцов В.А.¹, Дейнего В.Н.¹, Козырицкий Д.В.²

¹ ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт гигиены транспорта» Роспотребнадзора

² ГБОУ ЦДО «Малая академия наук» г. Севастополь, РФ

Trichoplax H2 (Placozoa) – простейшее из известных морских многоклеточных животных (6 типов клеток при общем количестве 50000 шт. в три слоя). Его строение является хорошей биологической моделью для изучения биофизических процессов протекающих в клетках животных [1], а также для исследования шишковидной железы человека [2]. Небольшая сложность Trichoplax вызывает интерес биофизиков к его математическому и машинному моделированию на уровне клеток, одиночного животного и группы животных [3]. В этой модели клетки могут связываться с питательным веществом и генерировать клеточные сигналы в плазме. Вопросы моделирования хемотаксиса были рассмотрены в работе [4]. Trichoplax живет в световой среде на глубине до 20 метров. По этой причине проведение разноплановых исследований на биологических, математических и машинных моделях Trichoplax некорректно осуществлять без знаний о его световой сенсорной системе, информация о которой в литературных источниках отсутствует. Целью исследований было определение

наличия у *Trichoplax* селективной поведенческой реакции на красный (R), зеленый (G) и синий (B) световые стимулы. В ходе исследований с учетом среды обитания были определены характеристики RGB – световых стимулов. Собрана установка для проведения исследований, которая состоит из двух частей: веб-камерного микроскопа и манипулятора с волоконно-оптической системой для подачи RGB – световых стимулов в водную среду с *Trichoplax*. На данном оборудовании была открыта селективная поведенческая реакция *Trichoplax* на RGB – световые стимулы [5] в условиях низкой освещенности. При воздействии зеленого света (532 нм) останавливается движение *Trichoplax*, замирает движение клеток в его внутренней структуре. Под воздействием ультрафиолетового света (395 нм) возникают вихревые движения внутренних клеток с последующим изменением формы *Trichoplax* и началом его движения в сторону источника ультрафиолетового света, который является преобладающим в световой среде на глубине обитания *Trichoplax*. При воздействии красного света (650 нм) уменьшается скорость движения *Trichoplax*, происходит замирание движения внутренних клеток на время паузы, через некоторое время *Trichoplax* начинает движение от источника красного света.

Экспериментальные исследования были проведены на базе лаборатории биоразнообразия и функциональной геномики Мирового океана ФИЦ «ИнБИОМ им. А.О. Ковалевского РАН» в рамках работы «Трихоплакс для бионики» (Сириус. Лето. Проектная задача "Трихоплакс для бионики" ФИЦ ИнБИОМ – YouTube), а по итогам снят фильм (Управление *Trichoplax* – YouTube).

Проведенные исследования позволили:

1. Сформировать перечень световых стимулов, разработать методику, применить оригинальное оборудование (двух веб-камерный микроскоп) и открыть селективную поведенческую реакцию *Trichoplax*, на красные (R), зеленые (G) и синие (B) оптические стимулы.
2. Разработать принцип машинного моделирования и управления *Trichoplax* световыми сигналами.
2. Открыть способ управления нейропептидной системой *Trichoplax* RGB – световыми стимулами.
3. По-новому взглянуть на эволюцию цветового зрения у многоклеточных животных Placozoa и продолжить исследования применительно к человеку.

1. Fortunato A., Fleming A., Akpitis A., Maley C.C. Radiation resistance in Placozoa: *Trichoplax adhaerens* upregulates DNA repair genes and extrudes cells after exposure // bioRxiv - Cancer Biology Pub Date: 2020-12-24. doi: 10.1101/2020.12.24.424349.

2. Капцов В.А., Дейнего В.Н., Козырицкий Д.В. RGB-таксис *Trichoplax* (Placozoa) как новый метод гигиенических исследований // Журнал Медицина труда и экология человека, 2021, № 1, с. 6-22. doi: 10.24411/2411-3794-2021-10101.

3. Altenburg K., Namasivayam K. A multiagent multicellular systems biology model of *Trichoplax adhaerens* // 2008 IEEE International Conference on Electro/Information Technology, 2008, pp. 456-460. doi: 10.1109/EIT.2008.4554346.

4. Emonet T., Macal C.M., North M.J. et al. Agent Cell: a digital single-cell assay for bacterial chemotaxis // Bioinformatics, 2005, vol. 21, no. 11, pp. 2714-2721.

5. Юный исследователь из Севастополя Даниил Козырицкий впервые в мире осуществил управление *Trichoplax*. Сайт ВОИР <http://www.ros-voir.ru/ru/news/1572>.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ВОЛНОВОГО ТРАНСПОРТА В БИОСИСТЕМАХ Modeling of Wave Transport Dynamics in Biosystems

Клочков Б.Н.

Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, РФ, klochkovbn@gmail.com

Рассмотрены активные волновые процессы изменения просвета цилиндрических полых органов. Предложено математическое описание модели автоволнового транспорта внутреннего содержимого органа на основе механохимических взаимодействий. Представлены аналитические решения для нелинейных перепадных волн, определяющих активный транспорт в полых органах. Обсуждены самоорганизационные изменения формы органов применительно к лимфатическим сосудам и другим объектам живых организмов.

В ряде работ описаны актуальные направления развития волновых исследований биологических тканей, в том числе и сосудов, с учетом их функциональной и структурной организации [1,2]. Особенно существенны активные волновые процессы с участием взаимодействующих белков в биологических системах, когда реализуются механические движения за счет биохимических реакций. В стенку различных полых биообъектов (органы, сосуды) могут входить гладкомышечные волокна (миоциты) или немышечные клеточные аналоги, за счет активности которых происходит динамическое изменение формы просвета органа и, как следствие, регуляция объема, тока биомассы, биожидкости, биогаза. Представлена нелинейная модель волновых процессов в биосистемах с учетом такой локальной миогенной регуляции. Механизмы её синхронизации связаны с собственной местной активацией мышечноподобных белковых структур, зависящей от геометрических и механических параметров. В этом случае возможно существование и распространение в органах перепадных автоволн просвета (волн сокращения–расширения). Решения модели призваны описывать и анализировать

возможности активной перистальтической прокачки биоматериалов, в частности, эффективность транспорта лимфы и крови.

При распространении такой автоволны вдоль органа его содержимое выдавливается этой волной (эффект нелинейного транспорта). Подсчитаем производительность Q_r такого активного насоса, вызванного распространяющейся механохимической автоволной сжатия органа. Она вычисляется при помощи уравнения неразрывности. Тогда получить численную оценку величины производительности насоса Q_r можно при помощи следующей формулы: $Q_r = \pi V_r (R_0^2 - R_1^2)$. Здесь R_1 и R_0 – соответственно минимальный и недеформированный радиусы органа в волне, V_r – скорость распространения волны изменения диаметра (просвета) лимфососуда. Доля фракции инъекции может быть рассчитана как $E_f = (R_0^2 - R_1^2) / R_0^2$.

В экспериментах на лимфатических сосудах [2] представлены следующие значения рассматриваемых параметров. Скорость распространения волны изменения диаметра (просвета) лимфососуда $V_r = 4\text{--}5$ мм/с, ширина фронта этой волны $l_r \sim 5R_0$, $R_0 = 0,2\text{--}1,5$ мм, частота волновых сокращений (возбуждающие пейсмекеры располагаются вблизи клапанов) $f_r = 4\text{--}6$ мин⁻¹, фракция изгнания $E_f = 45\text{--}65\%$. При этом перепад давления вдоль лимфососуда мал, мала скорость течения лимфы, поскольку мало производство лимфы в организме, определяемое медленными фильтрационными и другими процессами.

Из полученных выражений для значений $R_0 = 1$ мм, $q = 0,2$ с, $A = 0,4$ получаем $V_r = 4,6$ мм/с, $l_r = 5,5$ мм. Здесь q – время релаксации, $q = \mu_l / \mu$, где μ – модуль сдвига материала стенки, μ_l – коэффициент вязкости материала стенки. Безразмерный линейный параметр $A = (\gamma_1 - 2\mu) / \mu$, где γ_1 линейный параметр активного напряжения. Отсюда с учетом $R_1 = 0,6$ мм можно вычислить производительность такого активного насоса, вызванного распространяющейся автоволной сжатия, $Q_r = 9,2$ мм³/с. Величина инъекции составляет $E_f = 64\%$. Т. е. волна может давать существенный прокачивающий эффект. Параметры автоволны достаточно близки наблюдаемым и измеряемым. При осуществлении транспорта диссипация энергии De на волновом перепаде вычисляется при помощи интегрирования по объёму стенки сосуда с учётом вязкости материала стенки и скорости изменения радиуса, а также значений толщины стенки и модулей упругости, ее оценка составляет $De = -0,04$ г·см⁴/с³.

В заключение отметим, что представленная нелинейная математическая модель является достаточно точным приближением, позволяющим описать существование и распространение механохимических перепадных активных волн сокращения и расширения. Данная обобщенная универсальная модель описывает полный цикл сокращения–восстановления сосуда или органа. Предложенный механизм данного активного движения способен осуществлять важную транспортную функцию биологических материалов в органах цилиндрического типа: прокачку и насосные перистальтические эффекты. В рамках данной модели удалось получить понятные наглядные решения и аналитические выражения для скорости распространения автоволны сжатия (восстановления) просвета органа, для ширины её фронта и формы. Полученные с помощью формул их оценки близки экспериментальным данным и наблюдениям в лимфососудах животных. Заметим также, что описанные волны с близкими и сопоставимыми параметрами экспериментально наблюдались на сердце небольшой морской асцидии.

1. Fung Y.C. *Biodynamics*. Circulation. New York: Springer-Verlag, 1984, 404 p.

2. Ohhashi T., Azuma T., Sakaguchi M. Active and passive mechanical characteristics of bovine mesenteric lymphatics // *Amer. J. Physiol.* 1980, vol. 239, pp. H88-H95.

ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ ПРИ КОЛЛЕКТИВНОМ ПОВЕДЕНИИ БОЛЬШОЙ ГРУППЫ ВЫСШИХ ЖИВОТНЫХ

Phase Transitions in Collective Behaviour of a Large Group of Higher Animals

Костарев К.В., Брацун Д.А.

Пермский национальный исследовательский политехнический университет, г. Пермь, РФ, kost.kreal@gmail.com

Фазовые переходы второго рода в сплошных средах первоначально наблюдались и были осмыслены на примере физических систем. Однако, быстро выяснилось, что данное явление свойственно также статистическим системам, которые состоят из живых элементов. При коллективном поведении в сложных биологических системах фазовые переходы могут играть ключевую роль при выживании групп организмов. Наиболее известным примером такого рода является биоконвекция, наблюдаемая в растворах с аэробными бактериями и свободной поверхностью жидкость - воздух, через которую кислород проникает внутрь жидкости. Движение микроорганизмов по градиенту кислорода приводит среду к фазовому переходу второго рода, запускаящему макроскопическое упорядоченное движение элементов среды. Система приобретает свойства согласованного взаимодействия микроорганизмов и длинные корреляции. В результате особи проходят через область с повышенным содержанием кислорода поочередно. Такое устройство позволяет выживать большему количеству бактерий, чем в случае статически устойчивой стратификации среды с микроскопическим движением особей. В последнем случае значительная часть микроорганизмов в нижних слоях умирают от недостатка кислорода из-за невозможности двигаться по градиенту кислорода сразу всем особям одновременно. Будучи хорошо изученным

в среде микроорганизмов, явление фазовых переходов второго рода в среде высших животных до последнего времени практически было неизвестно, а немногие известные натурные наблюдения, как правило, интерпретировались в другом ключе (например, как элемент социального поведения в стае). В последние годы стало понятно, что в группах высших животных фазовые переходы могут выступать в роли механизма сохранения энергии в суровых условиях существования [1].

В данной работе в среде высших животных исследуется явление, которое аналогично конвекции Рэлея-Бенара в несжимаемой жидкости с действующей подъёмной силой. В качестве примера рассматривается коллективное поведение императорских пингвинов во время антарктической зимовки. Данное явление выражается в спонтанном переходе особей к плотно сжатой среде, который можно трактовать как смену агрегатного состояния эффективной среды из пингвинов. Впоследствии в системе происходит фазовый переход второго рода, приводящий к макроскопическим вихревым структурам в этой среде. В результате влияния суровых погодных условий особи, находящиеся внутри структуры, выносятся потоком наружу, уступая место тем, кто находился снаружи. Недавние экспериментальные наблюдения показывают, что в вихревых движениях участвуют сотни особей, а внутри плотной стаи устанавливается комфортная температура [2].

В данной работе мы предлагаем математическую модель данного явления, в рамках которой исследуется вопрос о механизмах самоорганизации в системе, представляющей собой колонию императорских пингвинов. Модель опирается на гипотезу о том, что эффективная подъёмная сила в стае генерируется желанием пингвинов двигаться в направлении градиента температуры, который формируется в плотно среде из птиц. Особи в модели представлены в виде совокупности дискретных тел, взаимодействующих друг с другом в соответствии с эффективным потенциалом, вид которого зависит как от физических эффектов, так и от социо-физических процессов в стае [3]. Управляющими параметрами задачи являются температура окружающей среды и скорость ветра. Показано, что модель воспроизводит большинство явлений, наблюдаемых в стае императорских пингвинов в естественных условиях. Например, сборку особей в плотную группу под действием низких температур. Но наибольшую важность представляет фазовый переход к вихревому движению при понижении температуры внешней среды, а также асимметрия паттерна в случае бокового ветра. Предложено сплошнородное описание данной системы, которое оказалось аналогичным тепловой конвекции в пористой среде с цилиндрической симметрией и радиальным направлением подъёмной силы.

Работа финансово поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (грант № FSNM-2020-0026).

1. Trenchard H., Perc M. Energy saving mechanisms, collective behavior and the variation range hypothesis in biological systems: a review // *BioSystems*, 2016, vol. 147, pp. 40-66.

2. Ancel A., Beaulieu M., Le Maho Y., Gilbert C. Emperor penguin mates: keeping together in the crowd // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2009, vol. 276, no. 1665, pp. 2163-2169.

3. Костарев К.В., Брацун Д.А. Математическое моделирование фазовых переходов при коллективном поведении императорских пингвинов в условиях антарктической зимовки // *Материалы всероссийской конференции «Глобальные проблемы Арктики и Антарктики» посвященной 90-летию со дня рождения акад. Н.П. Лавёрова*, Архангельск, 2–5 ноября 2020 г., Архангельск, 2020, с. 482-485.

СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИМЕРИЗАЦИИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ РЕЦЕПТОРНЫХ ТИРОЗИНКИНАЗ: РОЛЬ МЕМБРАННОГО ОКРУЖЕНИЯ

Structural and Dynamical Features of Transmembrane Domains Dimerization in Receptor Tyrosine Kinases: the Role of Membrane Environment

Кузнецов А.С., Ефремов Р.Г.

НИУ «Высшая школа экономики», г. Москва, РФ, akuzneczov@hse.ru

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, РФ

Взаимодействия спиральных участков белков в мембранном окружении лежат в основе работы широкого класса мембранных белков: рецепторов, транспортеров и ионных каналов. Рецепторные тирозинкиназы (РТК) занимают среди этих белков особое положение, поскольку наличие единственной альфа-спирали в качестве трансмембранного домена (ТМД) определяет важнейшую особенность их функционирования – формирование димеров с различной конформацией ТМД для передачи сигнала через мембрану. В связи с этим изучение конформационных возможностей спиральных ТМД в липидном бислое является фундаментальной задачей, лежащей в основе понимания работы РТК и других мембранных белков. В последнее время всё большее внимание уделяется детальному описанию структуры и свойств биологической мембраны как активной и адаптивной среды, модулирующей активность находящихся в ней белков, в том числе, РТК [1]. Несмотря на кажущуюся простоту системы, включающей димер ТМД в липидном бислое, использование методов атомистического моделирования и многомасштабный анализ позволили выявить непосредственное участие липидов мембраны в стабилизации определённых димерных конформаций ТМД РТК. Так, белок-липидные

взаимодействия вносят значительный вклад в свободную энергию димеризации ТМД гликофорина А и модельных полипептидов [2], а различия в стабильности формируемого димера ТМД рецептора ErbB4 в разном липидном окружении не объясняются напрямую принципом гидрофобного соответствия [3]. Анализ белок-липидных контактов в траекториях молекулярной динамики позволил выявить ряд закономерностей в распределении сайтов связывания липидов на поверхности ТМД, встроенных в мембрану. Так, для широкого класса модельных ТМД, содержащих гликофорин-подобный сайт димеризации, наблюдали связывание ацильных цепей липидов в данном сайте в случае, если он не занят вторым мономером белка. При формировании димера ТМД молекулы липидов вытесняются из гликофорин-подобного сайта и образуют характерные паттерны в карманах вблизи области контакта мономеров. Сходство в организации таких белок-липидных сайтов взаимодействия у разных РТК позволило выдвинуть предположение об общей структурной и функциональной роли прилежащих липидов. Мы полагаем, что перераспределение связанных липидов определяет дополнительную стабилизацию плотно упакованных гликофорин-подобных структур димеров ТМД, которые часто встречаются в природе у РТК. Изменение подвижности липидного окружения вблизи димера ТМД может также являться одним из триггеров для передачи сигнала рецептором внутрь клетки, поскольку известно, что внутриклеточный домен сильно связан с поверхностью мембраны в инактивированном состоянии. Таким образом, результаты атомистического моделирования позволяют непосредственно увидеть участие липидов мембраны в формировании активных и неактивных конформаций димеров ТМД РТК, что впоследствии может быть использовано для создания трансмембранных пептидных модуляторов активности этих рецепторов и других мембранных белков [4].

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований НИУ ВШЭ и поддержана грантом РФФИ №18-14-00375.

1. Bocharov E.V., Mineev K.S., Pavlov K.V. et al. Helix-helix interactions in membrane domains of bitopic proteins: Specificity and role of lipid environment // *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1859, no. 4, pp. 561-576.
2. Kuznetsov A.S., Polyansky A.A., Fleck M. et al. Adaptable Lipid Matrix Promotes Protein-Protein Association in Membranes // *J. Chem. Theory. Comput.*, vol. 11, no. 9, pp. 4415-4426.
3. Bragin P.E., Kuznetsov A.S., Bocharova O.V. et al. Probing the effect of membrane contents on transmembrane protein-protein interaction using solution NMR and computer simulations // *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 2018, vol. 1860, no. 12, pp. 2486-2498.
4. Albrecht C., Kuznetsov A., Appert-Collin A. et al. Transmembrane peptides as a new strategy to inhibit neuraminidase-1 activation // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020, vol. 8, p. 611121.

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ СУПЕРСПИРАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ Method for Chirality Assessment of Superhelical Protein Structures

Луценко А.О., Шпигун Д.К., Сидорова А.Э.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ
aleksluchrus@yandex.ru, denish.den@mail.ru, sky314bone@mail.ru

Одним из ключевых вопросов молекулярной биофизики является определение механизмов стратификации и построения структурных иерархий в биомолекулах, в первую очередь в белках и нуклеиновых кислотах. Для белков решение этого вопроса является неотделимым от проблемы выяснения хода процесса фолдинга, которая остается не решенной полностью на протяжении многих десятилетий. Структура белка представляет собой многоуровневую систему, одной из ключевых характеристик которой является хиральность. На различных иерархических уровнях структуры белка хиральность разная [1]. Так, из левых аминокислот, представляющих собой первичную структуру белков, образуются вторичные структуры, представленные в основном правыми альфа-спиралями; правые альфа-спирали, в свою очередь, имеют тенденцию к образованию левозакрученных суперспиралей типа «coiled-coil» [2]. Настоящая работа посвящена разработке универсальной методики оценки хиральности белковых суперспиралей.

Разработан метод, использующий оригинальную математическую модель и основанный на аппарате аналитической геометрии [3,4]. Аминокислотная последовательность белка аппроксимируется рядом опорных точек в трехмерном пространстве, каждая из которых является образом соответствующего аминокислотного остатка; в качестве координат эти точки используют координаты альфа-углеродов аминокислот. Для каждой альфа-спирали, составляющей суперспираль, строится ось этой спирали; кроме того, строится ось суперспирали. Ориентация угла между направлениями осей спиралей и направлением оси суперспирали позволяет определить хиральность суперспирали.

На основе разработанного алгоритма написана компьютерная программа, позволяющая автоматизировать процесс расчета знака хиральности. Для получения координат атомов программа использует файлы из базы данных PDB [5]. С помощью программы произведены расчеты для 115 суперспиралей «coiled-coil», 114 из которых метод определил как левые. Таким образом, полученные результаты вполне соответствуют данным,

известным из научной литературы, и согласуются с теорией смены знака хиральности в иерархиях белковых структур [1].

1. Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах // *Биофизика*, 2013, т. 58, № 1, с. 159-164.
2. Brändén C.-I., Tooze J. *Introduction to Protein Structure*. New York: Garland Publishing, 1999, 35 p.
3. 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.
4. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Lutsenko A.O. et al. Protein helical structures: defining handedness and localization features. *Symmetry*, 2021, vol. 13, no. 5, p. 879.
5. <https://www.rcsb.org/> (accessed: 01.06.2021).

MULTILAYER PERCEPTRON NEURAL NETWORK TO PREDICT THE SURFACE PLASMON RESONANCE OF GOLD NANOSPHERES USING THEIR MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS

Lima Navarro G., Arzola Flores J.A., Vidal Robles E., Hernandez Santiago A.A.

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, *Mexico*, jesus.arzola@correo.buap.mx

Gold nanoparticles (AuNPs) have been widely used due to their enormous field of application. These nanoparticles have been used for photocatalysis processes [1], elimination of bacteria and cancer cells [2,3], to improve the efficiency of solar cells [4], etc.

SPR is a phenomenon that emerges due to the interaction between an electric field and the conduction electrons of AuNPs [5]. If the frequency of the incident electric field coincides with the normal oscillation frequency of the conducting electrons, a resonance phenomenon emerges. A quantum of this collective movement of the conduction electrons is known as a plasmon [6].

Identifying the effect of the morphology of AuNPs on their SPR is of vital importance to define their possible field of application. Therefore, the present work shows the implementation of a multilayer perceptron neural network for the prediction of the SPR of AuNPs as a function of their diameter [7,8]. The results obtained in this work have made it possible to predict the dipolar SPR of AuNP with an accuracy above 95%.

1. Thompson D.T. Using gold nanoparticles for catalysis // *Nano Today*, 2007, vol. 2 (4), pp. 40-43.
2. Notarianni M., Vernon K., Chou A. et al. Plasmonic effect of gold nanoparticles in organic solar cells // *Solar Energy*, 2014, vol. 106, pp. 23-37.
3. Giljohann D.A., Seferos D.S., Daniel W.L. et al. Gold nanoparticles for biology and medicine // *Spherical Nucleic Acids*, 2020, pp. 55-90.
4. Sperling R.A., Gil P.R., Zhang F. et al. Biological applications of gold nanoparticles // *Chemical Society Reviews*, 2008, vol. 37 (9), pp. 1896-1908.
5. Amendola V., Pilot R., Frasconi M. et al. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review // *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2017, vol. 29 (20), p. 203002.
6. Arzola-Flores J.A., González A.L. Machine Learning for Predicting the Surface Plasmon Resonance of Perfect and Concave Gold Nanocubes // *The Journal of Physical Chemistry C*, 2020, vol. 124 (46), pp. 25447-25454.
7. Berzal F. *Redes neuronales & deep learning: Volumen II*. Independently published. 2019.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

Features of Changes in the Structural and Functional Organization of Blood Corpuscles during Modeling of Oxidative Stress

Масленникова О.М., Шипко М.Н., Степович М.А., Криштоп В.В., Сибирев А.Л.

¹ Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента Российской Федерации, г. Москва, РФ, *o.m.maslennikova@gmail.com*

² Ивановский государственный энергетический университет им. В.И. Ленина, г. Иваново, РФ, *michael-1946@mail.ru, alsibirev@mail.ru*

³ Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, г. Калуга, РФ, *m.stepovich@rambler.ru*

⁴ Национальный исследовательский университет ИТМО, Международный научный центр SCAMT (Solution Chemistry of Advanced Materials and Technologies), г. Санкт-Петербург, РФ, *chrishtop@mail.ru*

Исследованы особенности состояния форменных элементов крови до и после моделирования оксидативного стресса, наблюдаемого в результате применения кислородной терапии. Для моделирования оксидативного стресса в пробирки, содержащие цельную кровь, эритроцитарную массу, плазму крови и плазму, обогащённую тромбоцитами, вносили 0,5% раствор перекиси водорода в соотношении 5:1. Анализ состояния указанных элементов крови осуществляли методом газоразрядной визуализации, основанной на оптоэлектронной эмиссии жидких сред, регистрируемой с помощью прибора «ГРВ-камера» медицинского назначения. Параметрический анализ картин газоразрядного изображения, капель элементов крови, выполненный с использованием программы GDV Scientific Laboratory, позволил определить угловые распределения электронов эмиссии, воспроизводящих стереографические проекции каналов облегчённого движения электронов, сформированных молекулярными агрегатами белков, а также статистические характеристики, связанные с особенностями ближнего порядка молекулярных агрегатов, с особенностями их взаимодействия с каналируемыми электронами.

В результате исследования установлено, что наиболее высокая степень ближнего порядка в пространственном расположении молекулярных агрегатов наблюдается для плазмы, обогащённой тромбоцитами. Белковые ассоциаты плазмы характеризуются более низкой симметрией ближнего порядка и существенно различаются по размерам и зарядовому состоянию. Для эритроцитарной массы также свойственны значительные различия в размерах и зарядовых состояниях агрегатов эритроцитов. Наиболее сильное влияние на ближний порядок и зарядовое состояние клеточных структур оксидативный стресс оказывает на тромбоциты. Это отчётливо прослеживается на картинах распределения электронов по энергиям. Изменение положения максимумов распределения электронов по энергиям после прохождения их через капли эритроцитов, тромбоцитов и плазмы указывает, что окислительные процессы сопровождаются уменьшением величин отрицательного заряда их клеточных структур. В большей степени такое уменьшение свойственно для плазмы, обогащённой тромбоцитами. Это указывает на более существенное изменение функциональных свойств тромбоцитов после оксидативного стресса в сопоставлении с другими форменными элементами крови, что отчётливо сказывается на параметрах, характеризующих их функциональное состояние (табл. 1).

Таблица 1. Относительное изменение параметров, лимитируемых состоянием клеточных структур в форменных элементах крови до и после оксидативного стресса

Среда	Плазма крови	Плазма, обогащённая тромбоцитами	Эритроцитарная масса	Цельная кровь
Изменение энтропии, $\pm 0,1\%$	-6,9	-8,6	-0,2	-1,7
Изменение коэффициента фрактальности, $\pm 0,1\%$	-2,2	-0,6	-2,2	-1,7

Учитывая, что энтропия является мерой неупорядоченности системы, её уменьшение на 8,6% для плазмы, обогащённой тромбоцитами, и на 6,9% для плазмы крови, свидетельствует об уменьшении степени ближнего порядка в расположении их белковых ассоциатов. Это находится в соответствии с изменением коэффициентов фрактальности определяемых активностью процессов самоорганизации при оксидативном стрессе. Для тромбоцитов этот коэффициент уменьшается на 1,7%, в то же время как для эритроцитов увеличивается на 2,2%. Полученные данные могут быть использованы при выборе средств, нацеленных на восстановление антиоксидативного стресса тромбоцитов и эритроцитов при лечении функциональных расстройств различных органов, и прежде всего сердечно-сосудистой системы.

1. Шипко М.Н., Степович М.А., Сибирев А.Л. и др. Ориентационные эффекты при каналировании киловольтных электронов в жидких средах // Изв. РАН. Сер. физ., 2020, т. 84, № 7, с. 994-997. doi: 10.31857/S0367676520070273

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПОРТА ИОНОВ K^+ ПО КАНАЛАМ ИОННЫХ ОБМЕННИКОВ В ПРИСУТСТВИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ – АКТИВАТОРОВ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ

Study of the Efficiency of K^+ Ion Transport through Ion Exchanger Channels in the Presence of Drugs – Potassium Channel Activators

Масленникова О.М.¹, Сибирев А.Л.², Криштоп В.В.³, Шипко М.Н.², Степович М.А.⁴, Ленчер О.С.⁵

¹ Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента Российской Федерации, г. Москва, РФ, *o.m.maslennikova@gmail.com*

² Ивановский государственный энергетический университет им. В.И. Ленина, г. Иваново, РФ, *alsibirev@mail.ru, michael-1946@mail.ru*

³ Национальный исследовательский университет ИТМО, Международный научный центр SCAMT (Solution Chemistry of Advanced Materials and Technologies), г. Санкт-Петербург, РФ, *christop@mail.ru*

⁴ Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, г. Калуга, РФ, *m.stepovich@rambler.ru*

⁵ Ивановская государственная медицинская академия, г. Иваново, РФ

Изучены возможности использования методов газоразрядной визуализации (ГРВ) [1] для оценки фармакологических эффектов лекарственных средств – активаторов калиевых каналов. Для исследований использовали суспензии эритроцитов с различной концентрацией активаторов калиевых каналов – никорандила. Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием (15 мин. при 300 об./мин.), клетки трижды отмывали в изотоническом растворе с фосфатным буфером (РВС, «sigma», США). Для получения рабочей суспензии 0,06 мл трёхкратно отмытых эритроцитов ресуспендировали в 12 мл 0,9% NaCl для последующей их инкубации с препаратами. В качестве активатора АТФ-зависимых калиевых каналов использовали никорандил ($C_8H_9N_3O_4$, 2-Nicotimidoethyl Nitrate) с конечной концентрацией 0,01; 0,1; 1; 10 мМ. Суспензии эритроцитов инкубировали с препаратами в течение 30 мин. При комнатной температуре. Исследование особенностей проводимости калиевых каналов клеточной оболочки эритроцитов осуществляли с помощью серийного прибора «ГРВ-камера», аттестованного в качестве прибора медицинского назначения [1].

Принимая во внимание тот факт, что эффективность транспорта зарядов через проводящие каналы определяется интенсивностью их взаимодействия с белковыми структурами эритроцитов, были изучены распределения по энергиям и по углам электронов, эмитируемых раствором [2-5]. В результате по угловому и энергетическому распределению электронов была определена зависимость количества каналов облегчённого движения электронов, особенности молекулярных комплексов, формирующих стенки каналов от концентрации лекарственного средства. С увеличением концентрации активатора калиевых каналов увеличивается интенсивность максимумов распределения высокоэнергетических электронов по энергии. При этом интенсивность максимумов низкоэнергетических электронов уменьшается. Большое влияние на оба фактора оказывает водная среда, которая определяет степень торможения зарядов. Несмотря на тот факт, что эффективность транспорта ионов K^+ зависит от многих факторов, по изменению энергетического спектра каналируемых электронов можно судить об изменении проводимости водных сред каналов иницируемым лекарственным средством, а также оценивать оптимальное количество для получения максимального эффекта.

Исследования проведены при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-03-00271).

1. Коротков К.Г., Орлов Д.В., Величко Е.Н. Применение метода газоразрядной визуализации для анализа различных жидкостей // Изв. вузов. Приборостроение, 2011, т. 54, № 12, с. 40-46.

2. Shipko M.N., Stepovich M.A., Maslennikova O.M. et al. Possible use of low-energy electrons for structure studying of dilute solutions of surface-active substances // Жидк. крист. и их практич. использ., 2019, т. 19, № 2, с. 25-30. doi: 10.18083/LCAppl.2019.2.25

3. Шипко М.Н., Степович М.А., Сибирев А.Л. и др. Ориентационные эффекты при каналировании киловольтных электронов в жидких средах // Изв. РАН. Сер. физ., 2020, т. 84, № 7, с. 994-997. doi: 10.31857/S0367676520070273

4. Shipko M.N., Stepovich M.A., Sibirev A.L. et al. Orientational Effects of Kilovolt Electron Channeling in Liquid Media // Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics, 2020, vol. 84, no. 7, pp. 820-823. doi: 10.3103/S1062873820070266

5. Масленникова О.М., Шипко М.Н., Сибирев А.А. и др. О диагностическом потенциале метода газоразрядной визуализации в оценке эффективности препаратов для лечения сердечно-сосудистой патологии // Кремлевская медицина. Клинический вестник, янв. 2021, № 4, с. 91-96, <http://www.kremlin-medicine.ru/index.php/km/article/view/1525>.

ВЛИЯНИЕ ФЛУКТУАЦИЙ СО СТОРОНЫ ВНЕШНЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РАССИНХРОНИЗАЦИЮ МЕЖДУ ЦИРКАДНЫМ РИТМОМ И ЦИКЛОМ СОН-БОДРСТВОВАНИЕ

Influence of Fluctuations from External Impact on Desynchrony Between Circadian Rhythm and the Sleep-Wake Cycle

Меркулова К.О., Постнов Д.Э.

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, г.Саратов, РФ, *merknesia@gmail.com*

Все чаще в современном мире можно встретить такое расстройство сна как десинхрония, когда возникает рассинхронизация циркадного ритма человека с природным суточным ритмом, что вызывает усталость, бессонницу, головную боль, потерю аппетита и прочие дискомфортные состояния.

Одним из инструментов исследования сна и связанных со сном явлений является математическое моделирование. В начале 1980-х годов была предложена концепция двухпроцессных моделей, которая заключалась в том, что время и продолжительность сна контролируются двумя процессами - гомеостатическим и циркадным. Динамика сна и бодрствования определяется тем, как эти процессы взаимодействуют.

Гомеостаз сна отражает потребность во сне, которая увеличивается во время бодрствования и снижается во время сна. Циркадный процесс контролирует 24-часовую периодичность циклов сна и бодрствования. Он способствует бодрствованию, противодействуя гомеостатической потребности во сне в дневное время, и позволяет объединять эпизоды сна в ночное время.

В настоящей работе для моделирования процесса сон/бодрствование используется модель активирующей системы [1], которая демонстрирует наиболее близкий к реальности процесс пребывания человека в состоянии сна или бодрствования с описанием резкого и быстрого перехода от одного состояния к другому, а также учитывает чувствительность к свету, который на сегодняшний день является основным внешним фактором, регулирующим наши биологические часы.

Динамика возбуждения моделируется с точки зрения популяций нейронов и их взаимодействий. Элементами, отвечающими за сон или бодрствование, являются ключевые нейромодулирующие ядра, а внешней силой, вызывающей смену активности этих областей являются циркадный и гомеостатический процессы, которые представляются в виде осцилляторов.

Модель активирующей системы предполагает, что влияние со стороны других популяций нейронов на центры сна A_v и бодрствования A_m постоянно и не меняется во времени, что не реалистично. В работах [2,3] было показано, что эти параметры существенно влияют на период гомеостатического осциллятора. В рамках данной работы была поставлена задача исследовать поведение модели при подаче сигнала, в котором нет выделенного ритма.

Результаты исследования позволяют сделать выводы о способах управления режимом системы в целом и о факторах, способных вызвать рассинхронизацию ритмов циркадного и сон/бодрствование.

Работа была выполнена при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ 075-15-2019-1885.

1. Postnova S., Lockley S.W., Robinson P.A. Sleep propensity under forced desynchrony in a model of arousal state dynamics // Journal of biological rhythms, 2016, vol. 31 (5), pp. 498-508.

2. Postnov D.E., Merkulova K.O., Postnova S. Desynchrony and synchronization underpinning sleep-wake cycles // The European Physical Journal Plus, 2021, vol. 136, no. 5, pp. 1-19.

3. Merkulova K.O., Postnov D.E. The dynamical premise for desynchrony between circadian rhythm and the sleep-wake cycle // Saratov Fall Meeting 2020: Computations and Data Analysis: from Molecular Processes to Brain Functions. – International Society for Optics and Photonics, 2021, vol. 11847, p. 1184708.

ВОЗМОЖНОСТИ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КАПСУЛ С МИТОКСАНТРОНОМ

Possibilities of Intermolecular Interaction of Polyelectrolyte Capsules with Mitoxantrone

Наумов А.А., Пластун И.Л., Захаров А.А.

Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А, г. Саратов, РФ, *offhid@mail.ru*

Применение наночастиц для диагностики и таргетной терапии различных заболеваний в настоящее время является одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений в биофизике и медицине. В частности, особое внимание привлекают к себе биоразлагаемые полиэлектролитные капсулы, состоящие из полиаргинина и декстран сульфата, которые могут быть использованы в качестве системы доставки диагностических и лекарственных препаратов [1].

Методами молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности (ТФП) с функционалом V3LYP и базисным набором 6-31G(d) были рассчитаны структура и ИК спектры митоксантрона, полиаргинина

(представлены на рис. 1) сульфата декстрана и их молекулярных комплексов, образующихся при взаимодействии в ходе адресной доставки митоксантрона. Степень межмолекулярного взаимодействия определяется параметрами водородных связей, образующихся между митоксантроном, полиаргинином и сульфатом декстрана. Сила образовавшихся водородных связей оценивалась по длине водородного мостика и сдвигу частоты валентных колебаний О-Н и N-H связей в ИК-спектрах молекулярного комплекса относительно ИК-спектра отдельных молекул.

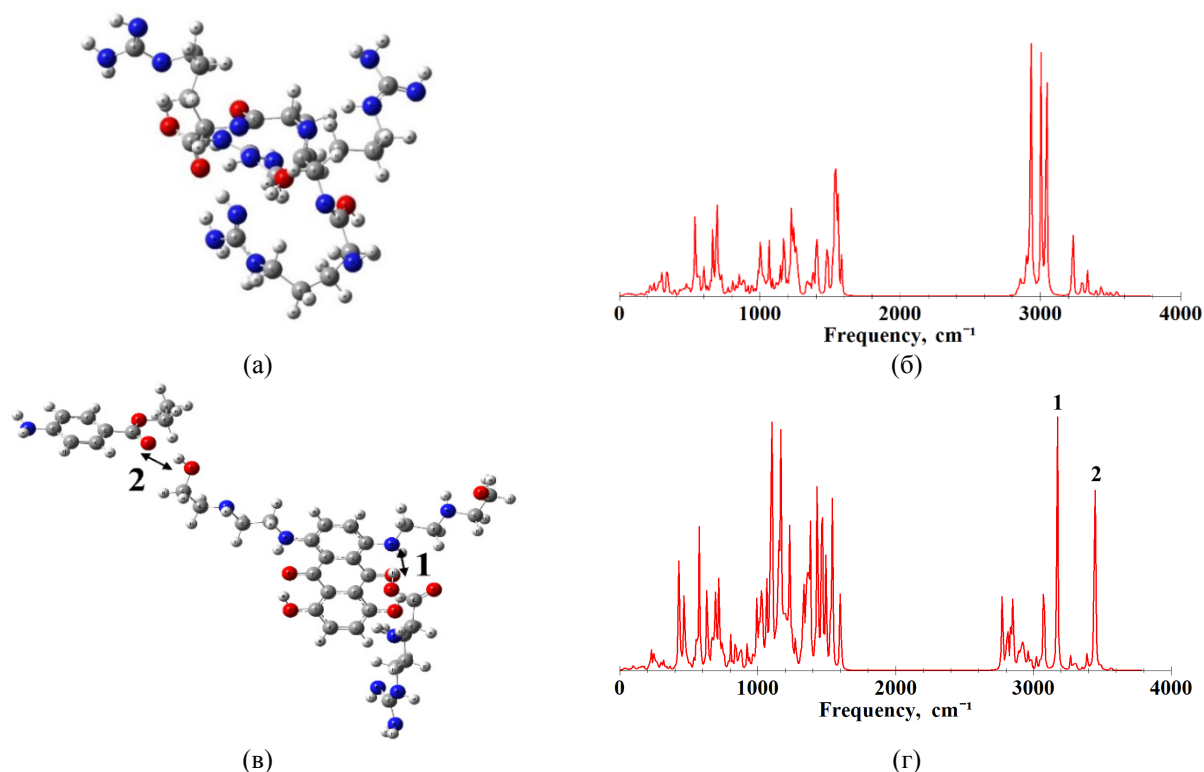


Рисунок 1/ Структуры (а,в) и ИК-спектры (б,г) полиаргинина (а,б) и молекулярного комплекса полиаргинин-сульфат декстрана – митоксантрон (в,г)

На основе результатов молекулярного моделирования различных вариантов комплексообразования митоксантрона с веществами полимерной полиэлектролитной капсулы можно сделать вывод о том, что сульфат декстрана образует слабые водородные связи как с полиаргинином, так и с митоксантроном, а между митоксантроном и полиаргинином водородные связи сильные и близкие к сильным. Это дает возможность сказать, что ведущую роль в доставке лекарств играет полиаргинин как вещество, удерживающее митоксантрон в капсуле, а сульфат декстрана играет роль буферного вещества, которое не участвует в распространении лекарства в организме, но обеспечивает освобождение лекарства порциями по ходу распространения капсулы.

1. Трушина Д.Б., Бутова А.С., Бородина Т.Н. и др. Термоиндуцированное сжатие капсул из комплекса “сульфат декстрана/полиаргинин” с магнитными наночастицами в составе оболочки // Коллоидный журнал, 2018, т. 80, № 6, с. 738-744.

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛАНТИБИОТИКОВ НИЗИНОВОГО ТИПА В ПРИСУТСТВИИ АНАЛОГА МИШЕНИ: ИССЛЕДОВАНИЕ IN SILICO Conformational Features of Nisin-Like Lantibiotics in Presence of a Target Analog: in Silico Study

Панина И.С.^{1,2}, Тальдаев А.Х.³, Чугунов А.О.^{1,2}, Ефремов Р.Г.^{1,2}

¹ Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», г. Москва, РФ

² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, РФ

³ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва, РФ, irinaspanina@gmail.com

Устойчивость бактерий к применяемым в клинической практике антибиотикам требует срочного поиска или разработки новых антибактериальных средств. Одними из кандидатов для дизайна новых лекарств являются лантибиотики – класс антимикробных пептидов, содержащих в своем составе в результате посттрансляционных модификаций неканонические аминокислотные остатки, такие как лантионин и/или метиллантионин. Мишенью

многих лантибиотиков является уникальная для бактерий молекула-предшественник клеточной стенки — липид II. Известно, что лантибиотики низинового типа, в частности, низин, эпидермин и галлидермин, селективно распознают на поверхности мембраны и связывают в прочный комплекс химически консервативную пирофосфатную группу (PPi) липида II [1], изменение или замена которой маловероятны, а, следовательно, низка и вероятность развития резистентности. Пептиды связывают PPi при помощи первых двух лантиониновых колец A (остатки 3-7) и B (остатки 8-11). Несмотря на небольшое различие в последовательности пирофосфат-связывающих участков, галлидермин и эпидермин обладают превосходящей низин активностью против некоторых штаммов бактерий [2]. Понимание механизма взаимодействия лантибиотиков с их мишенью на атомарном уровне является необходимым этапом на пути рационального дизайна новых антибиотиков.

В настоящей работе с помощью метода молекулярной динамики (МД) было проведено исследование межмолекулярного распознавания фрагментами лантибиотиков низинового типа (аминокислотные остатки 1-12) аналога их мишени — диметилпирофосфата (ДМПФ) в водном растворе. Проведены расчеты траекторий МД для следующих систем: низин₁₋₁₂/галлидермин₁₋₁₂/эпидермин₁₋₁₂ в воде, в присутствии и отсутствии ДМПФ. Расчеты проводили в программном пакете Gromacs версии 2020.04 с использованием параметров модифицированного тяжелоатомного силового поля (Gromos G43a2).

Показано, что все исследованные пептиды эффективно захватывают мишень в одной схожей конформации, которая характеризуется близким расположением колец A и B, стабилизируемое 1-2 внутримолекулярными водородными связями. В этой конформации углы ψ_7 and ϕ_8 между атомами, расположенными между двух колец, принимают значения $\sim 35^\circ$ и $\sim 125^\circ$, соответственно, для всех исследованных пептидов. Заселенность упомянутой конформации во всех рассчитанных траекториях МД различна для трех пептидов: для низина₁₋₁₂ составляет 28%, галлидермина₁₋₁₂ – 85%, эпидермина₁₋₁₂ – 88%. Кроме того, было показано, что это состояние присутствует в конформационных ансамблях пептидов в отсутствие мишени, однако, времена его существования составляют 53%, 42% и 35%, соответственно. Все лантибиотики связывают ДМПФ при помощи водородных связей преимущественно NH-групп основной цепи. Интересно, что число межмолекулярных связей составляет 4-5 для низина₁₋₁₂ и 6-7 для галлидермина₁₋₁₂ и эпидермина₁₋₁₂, что коррелирует с экспериментальными данными [2]. Возможность галлидермина и эпидермина образовывать большее число водородных связей определяется отсутствием в пятом положении sp^2 -гибридизованного Ca атома, характерного для дегидроаланина (Dha5) низина, что позволяет этим пептидам направить амидный протон пятого остатка в сторону связанной мишени (ДМПФ). Это подтверждается значением угла ϕ_5 : для низина он составил $\sim 168^\circ$, а для галлидермина и эпидермина $\sim 67^\circ$. Оценка свободной энергии связывания лантибиотиками молекулы ДМПФ в вышеупомянутой конформации показала большую эффективность галлидермина и эпидермина, по сравнению с низином. Полученные результаты представляют интерес для дальнейшего рационального дизайна новых антибактериальных препаратов на основе лантибиотиков.

Работа выполнена в рамках программы фундаментальных исследований НИУ ВШЭ. Суперкомпьютерные расчеты выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 19-74-30014).

1. Brötz H., Josten M., Wiedemann I. et al. Role of lipid-bound peptidoglycan precursors in the formation of pores by nisin, epidermin and other lantibiotics // *Mol. Microbiol.*, 1998, vol. 30, pp. 317-327.

2. Bonelli R.R., Schneider T., Sahl H.-G., Wiedemann I. Insights into in vivo activities of lantibiotics from gallidermin and epidermin mode-of-action studies // *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, vol. 50, pp. 1449-1457.

МАГНИТОЭЛАСТИЧЕСКАЯ ОБОЛОЧКА ВО ВНЕШНЕМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ КАК МОДЕЛЬ НАНОКОМПОЗИТНОЙ МАГНИТНОЙ ЛИПОСОМЫ

Magnetoelastic Shell in External Magnetic Field as a Model of Nanocomposite Magnetic Liposome

Потапенков К.В., Кокшаров Ю.А., Хомутов Г.Б.,

Московский государственный университет им. Ломоносова, г. Москва, РФ, potapenkov.kirill@physics.msu.ru

Магнитные эластомеры (феррогели, магнитореологические/магнитоактивные полимеры) – группа перспективных функциональных композитных материалов, способных изменять свои механические свойства или форму под воздействием внешнего магнитного поля (эффект магнитострикции). Как правило, основой структуры магнитоэластиков является полимерная матрица, содержащая магнитные частицы микронных или субмикронных размеров. Магнитоэластики могут быть применены на практике не только в промышленности или робототехнике, но и в области прикладной биофизики/биоинженерии.

Так, в качестве носителей для управляемой доставки биологически активных веществ *in vivo* разрабатывается широкий ряд полимерных материалов, содержащих наноразмерные магнитные частицы, которые попадают под определение магнитоэластиков. К данной группе также могут быть отнесены композитные липосомы, содержащие гидрофобизованные наночастицы магнетита в гидрофобной области липидной бислоиной мембраны.

Поведение полых оболочек, выполненных из магнитного материала, активно изучалось ранее в основном в контексте задач магнитного экранирования и детектирования. Для практических биофизических моделей можно рассмотреть деформацию оболочки, имеющей эллипсоидальную форму, во внешнем магнитном поле.

В нашей работе задача Лапласа для скалярного потенциала магнитного поля рассматривалась для четырех возможных состояний магнитной эллипсоидальной оболочки. При деформации, оболочка из магнитоэластика, изначально имевшая форму, близкую к сферической, может принять форму эллипсоида вращения. При этом, данный эллипсоид может иметь вытянутую или сплюснутую форму и быть ориентированным большей полуосью вдоль направления внешнего магнитного поля или же перпендикулярно ему. Широко известная задача об электростатической неустойчивости Релея-Тейлора является электростатическим аналогом описанной выше задачи. При этом, наиболее энергетически выгодной ориентацией для заряженной капли является форма вытянутого эллипсоида вращения, направленного длиной полуосью вдоль внешнего электрического поля.

После рассмотрения задачи Лапласа для скалярных потенциалов магнитного поля для случая четырех возможных состояний эллипсоидальной оболочки, потенциалы были проинтегрированы для получения формул для свободной и магнитостатической энергий оболочек. Данные результаты применимы для расчета в случае любых параметров оболочек. Однако, в настоящей работе был проведен численный эксперимент с расчетными параметрами, близкими к параметрам реально полученных нами нанокomпозитных липосом: начальный радиус оболочки составлял 300 нм, а толщина – порядка 10 нм.

Численный эксперимент показал, что минимум магнитостатической энергии наблюдается для случая вытянутого эллипсоида. В случае свободной энергии было показано, что наиболее энергетически выгодной ориентацией магнитоэластической оболочки в форме вытянутого эллипсоида вращения является ориентация его большей полуосью вдоль направления внешнего магнитного поля. Кроме того, ряд численных экспериментов был поставлен для проверки правильности полученных формул в предельных случаях, например, в случае, когда эллипсоид переходит в сферу.

Полученные формулы для магнитостатической энергии эллипсоидальной магнитоэластической оболочки во внешнем магнитном поле были использованы для оценок поведения во внешнем поле нанокomпозитных липосом, содержащих локализованные в мембранах магнитные наночастицы. Полная энергия липосом оценивалась как сумма энергии поверхностного натяжения бислоя и магнитостатической энергии оболочек. Численный эксперимент для ряда различных значений коэффициента поверхностного натяжения показал, что в случае, когда магнитостатическая составляющая полной энергии оценивалась по формуле для направления вытянутого эллипсоида большей полуосью вдоль направления внешнего магнитного поля, наблюдается уменьшение полной энергии при увеличении длины большей полуоси эллипсоида.

Наблюдаемое убывание полной энергии в данном случае может свидетельствовать о неустойчивости системы и возможности возникновения в ней деформаций. Полученный результат находится в согласии с результатами экспериментов с реальными магнитными липосомами во внешнем магнитном поле и может быть использован для построения более полной теории, описывающей эффекты их деформации и изменения проницаемости нанокomпозитных липосомальных мембран.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-29-02080).

1. Frumkis L., Kaplan B.-Z. Spherical and Spheroidal Shells as Models in Magnetic Detection // Transactions on magnetic, 1999, vol. 35, no. 5.
2. Khomutov G.B., Kim V.P., Koksharov Y.A. et al. Nanocomposite biomimetic vesicles based on interfacial complexes of polyelectrolytes and colloid magnetic nanoparticles // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2017, vol. 532.

САМООРГАНИЗАЦИЯ В ЭВОЛЮЦИОНИРУЮЩИХ СИСТЕМАХ МАКРО- И МИКРОУРОВНЕЙ

Self-Organization in Evolutionary Systems Macro and Micro Levels

Сидорова А.Э.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, sky314bone@mail.ru

Активные среды составляют системную биофизическую основу пространственно-временной самоорганизации живой материи на разных уровнях её организации – от макромолекулярного до биосферного и антропоферного.

Предложена и разработана биофизическая модель видообразования как иерархии активных сред в процессе эволюции биосферы для трех основных таксонометрических групп (прокариотов, одноклеточных и многоклеточных) с определенной нижней границей живой материи (появление прокариотов в ходе эволюции биосферы) и открытой для формирования новых видов верхней границей [1]. Выборки организмов в данных таксонометрических группах продиктованы наличием в научной литературе необходимой для построения модели информации по параметрам динамики генома: размеры и скорость мутаций всего генома и кодирующей

части. Формирование иерархий связано с дифференциацией и специализацией структурных элементов системы и усложнением сети прямых и обратных связей, а самоорганизация охватывает не только уровни (таксоны), но и связи между ними. Полученные результаты демонстрируют флуктуационно-бифуркационную траекторию эволюции как систему трансформации малых флуктуаций в гигантские в процессе самоорганизации и поэтапного отбора (на различных уровнях иерархии биологических структур) с последующей фиксацией полезных для видообразования мутаций – сформировавшихся устойчивых динамических состояний генома. На популяционном уровне представлена перколяционная модель отбора и фиксации мутаций, где естественный отбор представлен как перколяционный фильтр – составляющий физический инструмент отбора оптимальных вариантов отбора и фиксации мутаций [2]. Взаимодействие мутаций в череде поколений и случайные процессы дрейфа определяют коллективное поведение узлов (особи в популяции - носители и преобразователи мутаций) и связей (мутаций) в пространстве перколяционной решетки. Для процесса отбора и фиксации мутаций определены нижний и верхний пороги перколяционной решетки.

Предложена и разработана пространственно-временная автоволновая модель самоорганизации урбозкосистем (УЭС) как сопряженных природной и антропогенной подсистем. Для безразмерной модели УЭС как неоднородной среды получены условия: туннелирования и запираания автоволны, формирования зон моностабильности с внутренними переходными слоями [3]. Рассмотренные свойства позволяют качественно оценить пороговые и подпороговые условия распространения автоволнового процесса в процессе развития УЭС. Разработаны размерные автоволновые модели территориального расширения Москвы (1952–1968 гг.) и развития Новой Москвы до 2030 г., а также Шанхая с 2017 по 2030 гг.

Развита гипотеза, согласно которой полипептидную цепочку белков рассматривается в качестве одномерной активной среды с распределенным ресурсом свободной энергии. Начиная со второго уровня образования α -спирали, формирование структур рассматривается в качестве 3-мерной распределенной активной среды. Распространение возмущения в системе происходит интегрально автоволновым образом, в результате чего формируется вертикальная стратификация иерархии структур белков. На основе авторского метода оценки хиральности спиральных структур белков [4] представлена 3-мерная автоволновая модель образования вторичных структур белков с закрепленной нижней границей (необходимым набором аминокислот) и свободной верхней границей правой α -спирали из левых аминокислотных остатков [5].

1. Sidorova A.E. et al. A model of biological evolution as a process of active media hierarchy self-organization // *Biosystems*, 2020, vol. 198, p. 104234.

2. Sidorova A., Levashova N., Garaeva A., Tverdislov V. A percolation model of natural selection // *Biosystems*, 2020, vol. 193-194, p. 104120

3. Sidorova A.E., Levashova N.T., Semina A.E., Melnikova A.A. The Application of a Distributed Model of Active Media for the Analysis of Urban Ecosystems Development // *Mathematical Biology and Bioinformatics*, 2018, vol. 13, no. 2, pp. 454-465.

4. 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, pp. 155-166.

5. Sidorova A.E., Levashova N.T., Malyshko E.V., Tverdislov V.A. Autowave Self-Organization in the Folding of Proteins // *Moscow University Physics Bulletin*, 2019, vol. 74, no. 3, pp. 213-226.

ЭЛЕКТРОТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА ОДНОСЛОЙНОГО ГЕРМАНЕНА Peculiarities of Fullerene C₆₀ Behavior in an Aqueous Solution in the Presence of Caffeine Molecules

Судоргин С.А.

Волгоградский государственный аграрный университет, г. Волгоград, РФ, sergsud@mail.ru

Германен является новым материалом, состоящим из одного слоя атомов германия. Двумерная кристаллическая структура германена аналогична графену [1]. Теоретическая возможность существования германеновой структуры обсуждалась с середины 1990-х годов [2], и её устойчивость была предсказана в работе 2009 года [3], согласно которой германен представляет собой изогнутые слои. Также было показано, что носители заряда в германене описываются уравнением Дирака для безмассовых фермионов: закон дисперсии вблизи дираковских точек линейен и ширина запрещённой зоны равна нулю. С точки зрения электропроводности германен является полуметаллом.

Экспериментально германен впервые получен в 2014 году двумя двумя независимо работавшими научными группами: европейской и китайской. Процесс его получения схож с процессом получением силицена и графена: для осаждения слоя германия на инертную подложку-основу используется глубокий вакуум и высокая температура. Европейская группа в качестве подложки использовала золото, а китайская - платину.

Выполнено исследование электротранспортных характеристик однослойного германена во внешнем постоянном электрическом поле. Малая запрещенная щель германена поддается управлению электрическим полем, адсорбцией различных атомов, деформацией и взаимодействием с подложкой [4]. Германен обладает большими потенциальными возможностями применения в солнечных элементах.

В качестве геометрической модели германеновой наноленты выбирался двумерный гексагональный слой. Математическая модель электронного строения недеформированных германеновых нанолент строится на основе их геометрического строения и зонной структуры гексагонального слоя. Используется зонная структура нанолент в рамках метода сильной связи в приближениях Хюккеля и ближайших соседей [5]:

$$\begin{aligned} \varepsilon(\mathbf{k}) &= \pm\gamma_0 \left\{ 3 + 2\cos(\mathbf{k}\mathbf{a}_1) + 2\cos(\mathbf{k}\mathbf{a}_2) + 2\cos(\mathbf{k}(\mathbf{a}_1 - \mathbf{a}_2)) \right\}^{1/2} = \\ &= \pm\gamma_0 \left\{ 1 + 4\cos\left(\frac{\mathbf{k}(\mathbf{a}_1 + \mathbf{a}_2)}{2}\right) \cos\left(\frac{\mathbf{k}(\mathbf{a}_1 - \mathbf{a}_2)}{2}\right) + 4\cos^2\left(\frac{\mathbf{k}(\mathbf{a}_1 - \mathbf{a}_2)}{2}\right) \right\}^{1/2} \quad (1) \end{aligned}$$

где γ_0 – прыжковый интеграл, матричный элемент перехода электрона между соседними атомами, \mathbf{k} – волновой вектор, одна из компонент которого квантуется вдоль ширины ленты. Уровень Ферми в законе дисперсии (1) принимается равным 0 эВ.

Используя метод, описанный в статье [6] получено аналитическое соотношение для удельной проводимости однослойного германена. Исследованы зависимости удельной проводимости германеновых слоев различной хиральности от величины напряженности внешнего электрического поля.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Волгоградской области в рамках научного проекта № 19-42-343001.

1. Davila M.E, Xian L., Cahangirov S. et al. Germanene: a novel two-dimensional germanium allotrope akin to graphene and silicone // *New Journal of Physics*, 2014, vol. 16, no. 9, p. 095002. doi: 10.1088/1367-2630/16/9/095002
2. Kyoazaburo T., Kenji S. Theoretical possibility of stage corrugation in Si and Ge analogs of graphite // *Physical Review B*, 1994, vol. 50, no. 20, pp. 14916-14922. doi: 10.1103/PhysRevB.50.14916
3. Cahangirov S., Topsakal M., Aktürk E. et al. Two- and one-dimensional honeycomb structures of silicon and germanium // *Physical Review Letters*, 2009, vol. 102, no. 23, p. 236804. doi: 10.1103/PhysRevLett.102.236804
4. Acun A., Zhang L., Vampoulis P. et al., Germanene: the germanium analogue of graphene // *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2015, vol. 27, no. 44, p. 443002.
5. Aoki H., Dresselhaus M.S. *Physics of graphene*. Switzerland: Springer International Publishing, 2014. 345 p.
6. Sudorgin S.A., Lebedev N.G., Belonenko M.B. Effect of electric field on the transport and diffusion properties of bilayer graphene ribbons // *Physica Scripta*, 2013, vol. 87, p. 015602.

ВЕРОЯТНОСТНАЯ МОДЕЛЬ АКТИВНОСТИ ПЕРЕХОДА К ЦИТОКИНЕЗУ В ПРОЦЕССЕ МИТОЗА МИКРОВОДОРОСЛЕВЫХ КЛЕТОК

Probability Model of the Activity of Transition to Cytokinesis in the Process of Microalgae Cell Mitosis

Тренкеншу Р.П.

ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,
r.trenkenshu@rambler.ru

В основе модели лежит представление о двух основных фазах, составляющих жизненный цикл клетки – интерфазе и фазе деления (митоз). Интерфаза рассматривается как светозависимый процесс, при котором происходит рост биомассы клетки [2,3]. Фаза деления не зависит от света и наступает после достижения клеткой определенной массы, равной (или большей) сумме масс дочерних клеток [3]. Заканчивается стадия деления цитокinesisом – полным разделением клетки на дочерние [4,6].

В процессе митоза в клетке происходит последовательность процессов, связанных с активизацией реакций с участием циклин-зависимых киназ и циклинов [4]. Успешно разработаны кинетические модели эукариотического регулирования клеточного цикла, основанные на этих представлениях [5]. Но предложенные кинетические модели имеют большое количество дифференциальных уравнений, что в итоге приводит к необходимости редуцирования систем уравнений до небольшого количества [1,5].

При выращивании микроводорослей знание длительности фазы митоза играет важную роль для оценки морфологической структуры популяции клеток и биохимического состава их биомассы. Независимость длительности митоза (τ_m) от света при прочих одинаковых условиях выращивания позволяет полагать, что эта длительность есть величина, близкая к постоянной, а активность перехода из состояния митоза (μ_m) к цитокinesisу является также величиной, близкой к постоянной [3,6]. Эти величины связаны соотношением:

$$\mu_m = \frac{I}{\tau_m}.$$

В вероятностном смысле длительность фазы митоза можно рассматривать как математическое ожидание (или среднее значение) времени, необходимого для полного разделения клетки. Близость длительности митоза к постоянному значению можно охарактеризовать среднестатистическим отклонением (σ) или дисперсией (σ^2), а

вероятность того, что клетка разделится к моменту времени (τ_m), будет описываться нормальным распределением плотности вероятности:

$$f(\tau_{div}) = \frac{I}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(\tau_{div}-\tau_m)^2}{\sigma^2}}$$

где τ_{div} – текущее время стадии митоза.

Отсюда следует, что активность цитокинеза (или выхода из стадии митоза) имеет такое же распределение, но с положительным показателем экспоненты:

$$\mu_{div} = \frac{I}{\tau_{div}}, \frac{\mu_{div}}{\mu_m} = \frac{\tau_m}{\tau_{div}}, f(\mu_{div}) = \sigma\sqrt{2\pi} e^{\frac{(\tau_{div}-\tau_m)^2}{\sigma^2}}$$

1. Ризниченко Г.Ю. Лекции по математическим моделям в биологии. М.: Издательство РХД, 2011, 560 с.
2. Цоглин Л.Н., Клячко-Гурвич Г.Л. Изменение функциональной активности хлоропласта в клеточном цикле хлореллы // Физиология растений, 1980, т. 27 (6), с. 1172-1179.
3. Цоглин Л.Н., Пронина Н.А. Биотехнология микроводорослей. М.: Научный мир, 2012, 184 с.
4. Novak B., Tod Th. A., Csikasz-Nagy A. et al. Finishing the cell cycle // Journal of Theoretical Biology, 1999, vol. 199, pp. 223-233.
5. Sible J.C., Tyson J.J. Mathematical modeling as a tool for investigating cell cycle control networks // Methods, 2007, vol. 41, pp. 238-247.
6. Tyson J.J., Novák B. Temporal organization of the cell cycle // Current Biology, 2008, vol. 18, pp. 759-768.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРЕД-ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОЙ ФАЗЫ РОСТА В КУЛЬТУРЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Modeling the Pre-Exponential Growth Phase in Microalgae Culture Pigments

Тренкеншу Р.П., Ширяев А.В., Горбунова С.Ю.

ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ,
svetlana_8423@gmail.com

Периодическая (накопительная) культура является наиболее распространенным способом культивирования и исследования роста микроводорослей. Накопительная культура характеризуется последовательностью фаз роста, причём первая фаза – пред-экспоненциальная – наименее изученная. В этой фазе роста клетки микроводорослей адаптируются к новым заданным условиям среды [1]. Далее культура переходит к экспоненциальному росту, который обусловлен постоянной удельной скоростью роста всех компонентов клеток и биомассы в целом [2]. Необходимым условием экспоненциального роста является отсутствие лимитирующих факторов.

В рамках данной статьи рассмотрим биомассу микроводорослей, состоящую из двух компонент: ресурсной и структурной частей. Такой подход впервые был использован в работе [3] для количественного описания процессов трансформации макромолекулярных форм биомассы микроводорослей в темноте.

Цель работы – используя упрощённую математическую модель исследовать динамику структурной и резервной форм биомассы микроводорослей в период пред-экспоненциальной фазы.

Представим биомассу в виде суммы двух компонент: структурная форма (B_{str}) и ресурсная (B_{res}):

$$B = B_{str} + B_{res}$$

Система уравнений, описывающая фотосинтез ресурсных форм и их переход в структурные формы биомассы [4] в упрощённом виде может быть представлена как:

$$\begin{cases} \frac{dB_{res}}{dt} = \mu_m i_o B_{str} - \mu_{mrs} B_{res} \\ \frac{dB_{str}}{dt} = \mu_{mrs} q_{rs} B_{res} - \mu_r B_{str} \end{cases}$$

где:

μ_{mrs} – максимальная удельная скорость трансформации ресурсных веществ в структурные,

μ_m – максимальная удельная скорость синтеза продуктов световой стадии,

q_{rs} – экономический коэффициент этого перехода,

μ_r – удельная скорость естественного распада структур.

Решение такого типа систем уравнений сводится к преобразованию системы в дифференциальное уравнение второго порядка через выражение одной переменной в другую путём подстановок.

$$\frac{d^2 B_{res}}{dt^2} + (\mu_{mrs} + \mu_r) \frac{dB_{res}}{dt} + \mu_{mrs} (\mu_r - i_0 \mu_m q_{rs}) B_{res} = 0$$

где введены обозначения:

$$\mu_1 = -\frac{(\mu_r + \mu_{mrs})}{2} + \sqrt{\left(\frac{\mu_r + \mu_{mrs}}{2}\right)^2 + \mu_{mrs} \mu_m q_{rs} i_0}$$

$$\mu_2 = -\frac{(\mu_r + \mu_{mrs})}{2} - \sqrt{\left(\frac{\mu_r + \mu_{mrs}}{2}\right)^2 + \mu_{mrs} \mu_m q_{rs} i_0}$$

Введем величину для описания динамики структурной и резервной форм биомассы – отношение резервной формы к структурной:

$$\varepsilon = \frac{B_{res}}{B_{str}}$$

Решение системы уравнений будет иметь вид:

$$B_{res} = B_{0res} \frac{1}{\varepsilon_0} (k_1 e^{\mu_1 t} + k_2 e^{\mu_2 t}),$$

$$B_{str} = B_{0str} \frac{1}{\mu_m i_0} [(\mu_1 + \mu_{mrs}) k_1 e^{\mu_1 t} + (\mu_2 + \mu_{mrs}) k_2 e^{\mu_2 t}]$$

где $B_{res} = B_{0res}$, $B_{str} = B_{0str}$, $\varepsilon_0 = \frac{B_{0res}}{B_{0str}}$ – начальные условия при $t = 0$,

$$k_1 = \frac{\mu_m i_0 - \mu_2 \varepsilon_0 - \mu_{mrs} \varepsilon_0}{\mu_1 - \mu_2}, \quad k_2 = \varepsilon_0 - k_1 = \frac{\mu_1 \varepsilon_0 + \mu_{mrs} \varepsilon_0 - \mu_m i_0}{\mu_1 - \mu_2},$$

Концентрация биомассы в культуре представляет собой сумму концентраций резервных и структурных биохимических составляющих:

$$B = B_0 \frac{1}{\mu_m i_0 (\varepsilon_0 + 1)} [(\mu_1 + \mu_{mrs} + \mu_m i_0) k_1 e^{\mu_1 t} + (\mu_2 + \mu_{mrs} + \mu_m i_0) k_2 e^{\mu_2 t}]$$

Для отношения составляющих биомассы получим выражение:

$$\varepsilon = \mu_m i_0 \frac{k_1 e^{\mu_1 t} + k_2 e^{\mu_2 t}}{(\mu_1 + \mu_{mrs}) k_1 e^{\mu_1 t} + (\mu_2 + \mu_{mrs}) k_2 e^{\mu_2 t}}$$

Соотношение ресурсной/структурной форм биомассы имеет стационарную величину во времени ε_{ln} для всех начальных ε_0 . Это стационарное состояние обусловлено экспоненциальным ростом, когда наблюдаются постоянные соотношения компонентов клеток. Данное соотношение можно вычислить по формуле:

$$\varepsilon_{ln} = \lim_{t \rightarrow \infty} \mu_m i_0 \frac{k_1 e^{\mu_1 t} + k_2 e^{\mu_2 t}}{(\mu_1 + \mu_{mrs}) k_1 e^{\mu_1 t} + (\mu_2 + \mu_{mrs}) k_2 e^{\mu_2 t}} = \frac{\mu_m i_0}{\mu_1 + \mu_{mrs}}$$

Представленная модель описывает период адаптации клеток микроводорослей. Суть адаптации заключается в переходе на стационарное состояние, при котором удельные скорости составляющих биомассы и соотношение ε постоянны.

Показано, что динамика биомассы существенно зависит не только от внешних условий культивирования микроводорослей, но и от начального соотношения компонент биомассы. Из решения уравнений следует, что необходимым условием перехода в экспоненциальную фазу является постоянство соотношения компонент во времени. Таким образом, пред-экспоненциальная фаза является переходным, или адаптационным, процессом периодической культуры. При этом удельные скорости биохимических процессов и биохимический состав в клетках микроводорослей постоянно изменяются. С течением времени должен сформироваться определенный биохимический состав, который соответствует заданным световым условиям выращивания.

При определенных начальных соотношениях компонент наблюдается также и отрицательная динамика роста на начальном этапе выращивания, что обусловлено высоким относительным содержанием ресурсов в биомассе.

1. Anning T., MacIntyre H.L., Pratt S.M. et al. Photoacclimation in the marine diatom *Skeletonema costatum* // *Limnology & Oceanography*, 2000, vol. 45, pp. 1807-1817.
2. Тренкеншу Р.П. Культура микроводорослей как модельный объект в гидрoэкологии // *Морской экологический журнал*, 2009, № 8, вып. 4, с. 41-52.
3. Тренкеншу Р.П. Модификация уравнений динамики макромолекулярного состава микроводорослей. // *Морские биологические исследования: достижения и перспективы*. Севастополь: Экокси-гидрофизика, 2016, с. 448-451.

СТРУКТУРА И КОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ СПЕКТРЫ ИЗОМЕРОВ ДИГИДРОКСИБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ. ТЕОРИЯ, ЭКСПЕРИМЕНТ

Structure and Vibrational Spectra of Dihydroxybenzoic Acid Isomers. Theory, Experiment

Финашкин Д.С., Бабков Л.М.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов РФ, imbabkov@gmail.com

Дигидроксибензойные кислоты (ДГОбК) являются подклассом гидроксибензойных кислот, обладающих двумя гидроксильными группами, относительное положение которых определяет свойства молекул. ДГОбК имеют широкое применение в различных областях: от пищевой сферы и косметической промышленности до производства пластмасс и фармации, поэтому важно знать свойства различных изомеров этой кислоты и уметь предугадывать их, исходя, в частности, из результатов компьютерного моделирования. Существует 6 структурных изомеров ДГОбК, отличающихся положением ОН-групп: 2,3-ДГОбК (пирокатеховая кислота), 2,4-ДГОбК (β-резорциловая кислота), 2,5-ДГОбК (гентизиновая кислота), 2,6-ДГОбК (γ-резорциловая кислота), 3,4-ДГОбК (протокатеховая кислота), 3,5-ДГОбК (α-резорциловая кислота). Структура молекул ДГОбК показана на рисунке 1.

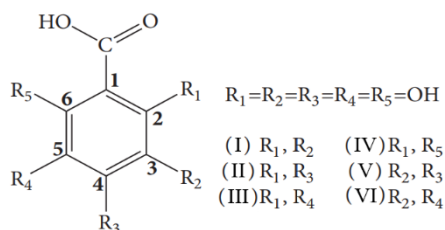


Рисунок 1. Структурные формулы ДГОбК (I, II, III, IV, V и VI) с указанием атомной маркировки и их тривиальных названий [1]

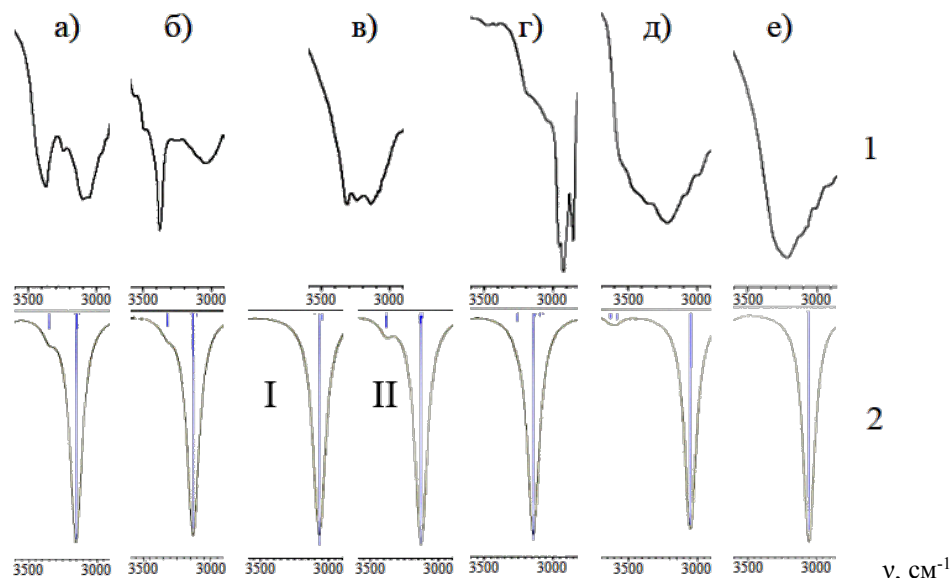


Рисунок 2. Экспериментальные (1) и рассчитанные (2) интенсивности в ИК спектре димеров ДГОбК: а) 2,3-; б) 2,4-; в) 2,5- (I) и 2,5-' (II); г) 2,6-; д) 3,4-; е) 3,5-ДГОбК

Методом теории функционала плотности B3LYP/6-31G(d) [2] проведено моделирование структуры и колебательных спектров изолированных молекул ДГОБК и их димеров: рассчитаны минимальная энергия, геометрическая структура, электрооптические параметры, частоты и формы нормальных колебаний и их интенсивности в ИК спектре.

Результаты моделирования указывают на сильное влияние межмолекулярных водородных связей на ИК спектр, проявляющееся в аномальном уширении полос, соответствующих валентным колебаниям связи О-Н и увеличении их интенсивности. Частоты колебаний ОН-связей димеров отличаются друг от друга незначительно, находясь в диапазоне $3050 \pm 35 \text{ см}^{-1}$. На формирование структуры полос ИКС димеров 2,3-, 2,4-, 2,6-ДГОБК и 2,5-ДГОБК в данной области влияют также и внутренние водородные связи.

1. Milenković D., Đorović J., Jeremić S. et al. Free Radical Scavenging Potency of Dihydroxybenzoic Acids // Journal of Chemistry, 2017, vol. 2017, Article ID 5936239.

2. Frisch J., Trucks G.W., Schlegel H.B. Gaussian03, Revision B.03; Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003, 302 p.

МОДЕЛЬ ИЗМЕНЕНИЯ ДЕПРЕССИИ СИНАПТИЧЕСКОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ В ОТВЕТ НА БЛОКИРОВКУ ОСНОВНЫХ ПУТЕЙ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПРОВОДИМОСТИ

Model of Change in Depression of Synaptic Excitation in Response to Blocking of the Main Paths of Intracellular Regulation of Synaptic Conductivity I

Фрицлер Я.В., Шуваев А.Н.

Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, *fri.yana@mail.ru*

Синаптической пластичностью называется изменение проводимости импульса между нейронами, которое происходит из-за нарушений внутриклеточной регуляции в клетках, участвующих в синаптической передаче: пресинаптический и постсинаптический нейроны и астроцит. При этом, точно определить какой из механизмов вносит наибольший вклад или распределить механизмы по значимости в эксперименте дорого и технически сложно.

Поэтому мы применили математическое моделирование, которое позволяет воспроизвести каждый механизм в отдельности для того, чтобы попытаться выявить влияние его на пластичность. Для верификации прогноза модели были использованы экспериментальные данные эндоканнабиноид-опосредованной кратковременной пластичности DSE (депрессия синаптического возбуждения), а также SSE (синаптически вызванное подавление возбуждения) пластичности, связанной с нарушением глутаматной (через mGluR1) регуляции.

За основу были взяты модели Де Питты [1], Зачариу [2], Маннинен [3]. В результате была смоделирована система клеток пресинаптический нейрон – постсинаптический нейрон – астроцит. В модели блокировались те же пути регуляции, что и в эксперименте: VGCC, mGluR1, IP3R, RyR. Блолируемые пути показаны на рисунке. Блолирование осуществляли посредством умножения уравнения сигнального пути на:

$$1 - \text{block} * e^{-at}$$

где block – доля блокирования пути, а – скорость диссоциации блокатора.

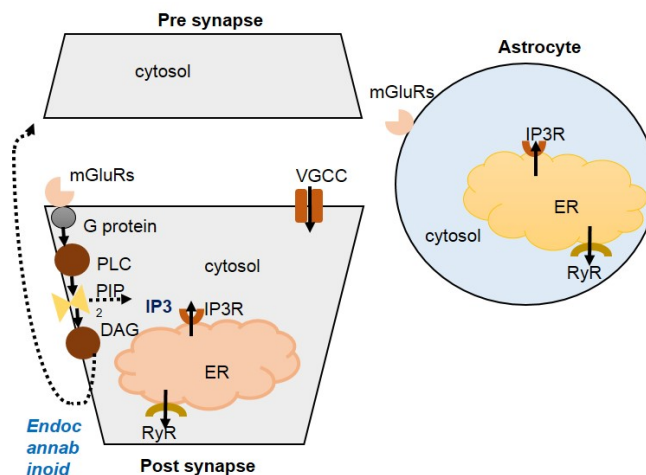


Рисунок 1. Схема блокируемых сигнальных путей модели

Так как использованные модели (для трех клеток), содержат десятки параметров, известные значения параметров были зафиксированы и проверены на контрольных значениях эксперимента. При сравнении с данными с заблокированными путями регуляции варьировалось всего несколько параметров (из биологических предпосылок).

В результате работы нами была оценена эффективность блокирования сигнальных путей нифедипином, кофеином, гепарином и СРССОEt. При сравнении модельных результатов с экспериментальными нам удалось вычислить скорости инактивации блокаторов.

1. De Pittà M. et al. Glutamate regulation of calcium and IP 3 oscillating and pulsating dynamics in astrocytes // Journal of biological physics, 2009, vol. 35, no. 4, pp. 383-411.

2. Zachariou M. et al. A biophysical model of endocannabinoid-mediated short term depression in hippocampal inhibition // PloS one, 2013, vol. 8, no. 3, p. e58926.

3. Manninen T., Saudargiene A., Linne M.L. Astrocyte-mediated spike-timing-dependent long-term depression modulates synaptic properties in the developing cortex // PLoS computational biology, 2020, vol. 16, no. 11, p. e1008360.

СКОРОСТЬ РОСТА И КПД ФОТОБИОСИНТЕЗА КУЛЬТУРЫ *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* В УСЛОВИЯХ ЕСТЕСТВЕННОГО ОСВЕЩЕНИЯ

Growth Rate and Efficiency of Photobiosynthesis of *Phaeodactylum Tricornutum* Culture under Natural Illumination Conditions

Чекушкин А.А.¹, Лелеков А.С.¹, Подгорная А.Л.²

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ, chekushkin.78@mail.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, Россия

Диатомовая микроводоросль *Phaeodactylum tricornutum* является модельным объектом при исследовании первичной продукции, получения полиненасыщенных жирных кислот, биотоплива и фармацевтических препаратов. В условиях юга России возможна организация массового культивирования данного объекта в осеннее-весенний период, когда температурные условия являются благоприятными для этого вида. Так как световые условия являются наиболее значимым фактором, определяющим скорость роста культуры микроводорослей, необходимо оценить влияние солнечной радиации на продукционные характеристики *Ph. tricornutum*. Исследование суточной динамики изменения биомассы в осенне-весенний период является первым этапом при разработке теоретических основ роста культуры *Ph. tricornutum* в условиях естественного освещения.

Цель работы – определение зависимости скорости роста и КПД фотобиосинтеза культуры *Ph. tricornutum* от облучённости в условиях естественного освещения г. Севастополь.

Экспериментальные работы выполнялись на базе отдела биотехнологий и фиторесурсов ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского» с 25 января по 03 февраля 2021 г. Культуру диатомовой микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin (штамм IBSS-41 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана») выращивали в накопительном режиме на питательной среде для морских микроводорослей [1] в плоскопараллельном бассейне. Для определения количества солнечной энергии ФАР использовали автоматический датчик измерения освещённости на базе платформы Arduino [2]. Величины освещённости переводили в облучённость ФАР, приходящуюся на поверхность бассейна, с помощью коэффициента 4,26 [3]. Определяли величину оптической плотности культуры на фотометре UNICO-2100 при длине волны 750 нм, погрешность измерения не превышала 1 %. Для пересчёта единиц оптической плотности D_{750} в биомассу (г СВ/л) использовали ранее определённый коэффициент 0,55. Температура суспензии составляла $22 \pm 1^\circ\text{C}$ и поддерживалась с использованием аквариумного обогревателя Atman AT-50W. Для поддержания pH в оптимальном диапазоне непосредственно в бассейн с культурой подавался углекислый газ. Так как толщина слоя культуры составляла 6,5 см, считали, что коэффициент поглощения энергии ФАР клетками *Ph. tricornutum* равен 1. При расчёте КПД фотобиосинтеза использовали среднюю калорийность биомассы микроводорослей, которая составляет около 5 ккал или 20,86 кДж [3]. Рассчитывали среднюю продуктивность культуры и КПД фотобиосинтеза за световой день и за всё время эксперимента.

Скорость роста культуры *Ph. tricornutum* в течение светового дня не была постоянной и зависела от текущей величины облучённости. Приток солнечной радиации ФАР, приходящейся на поверхность бассейна, составлял от 0,48 до 1,07 МДж/м². Средняя продуктивность за 8 часов светового дня изменялась от 13 до 30 г СВ/м², а за всё время эксперимента составила 2,4 г СВ/(м²·сут). Величина КПД фотобиосинтеза культуры *Ph. tricornutum* варьировала от 12 до 35 %, а за 8 дней – 6,4 %. Полученные высокие значения продуктивности и КПД фотобиосинтеза за световой день можно объяснить тем, что после восхода солнца рост культуры микроводорослей обусловлен только увеличением резервной части биомассы за счёт фотосинтеза. Структурная часть биомассы за шесть часов светового дня практически не изменяется [4]. При оценке КПД фотобиосинтеза

необходимо учитывать, что калорийность биомассы микроводорослей может значительно варьировать за счёт изменения биохимического состава клеток.

Работа выполнена в рамках госзадания по теме НИР ФИЦ ИнБЮМ № 0828-2018-0004.

1. Тренкеншу Р.П., Терсков И.А., Сидько Ф.Я. Плотные культуры морских микроводорослей. Изв. СО АН СССР (сер. Биол.), 1981, вып. 3, № 15, с. 75-82.

2. Чекушкин А.А., Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. Автоматической датчик регистрации суточных колебаний освещённости в районе г. Севастополя // Актуальные вопросы биологической химии и физики, 2018, т. 3, № 3, с. 547-552.

3. Чекушкин А.А., Лелеков А.С., Геворгиз Р.Г. Сезонная динамика предельной продуктивности в горизонтальном фотобиореакторе // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2020, т. 5, № 3, с. 405-411.

4. Лелеков А.С., Ширяев А.В. Динамика макромолекулярного состава биомассы микроводорослей в утренние часы в условиях естественного освещения. Модель // Экология гидросферы, 2020, № 1 (5), с. 45-52.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛАССИФИКАТОРА «СЛУЧАЙНЫЙ ЛЕС» ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РАСТЕНИЯ ГОРОХА *PISUM SATIVUM* И ФИТОПЛАНКТОН

Application of the Random Forest Classifier to Determine the Toxic Effects of Heavy Metals on *Pisum Sativum* and Phytoplankton

Червицов Р.Н.¹, Тодоренко Д.А.¹, Дрозденко Т.В.², Хрушев С.С.¹, Антал Т.К.^{1,2}, Плюснина Т.Ю.¹

¹ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, г. Москва, РФ,
roman123qwe123@gmail.com

² Псковский государственный университет, г. Псков, РФ,

Благодаря активному развитию технических возможностей для получения экспериментальных данных объем таких данных значительно вырос. Для анализа большого массива данных необходимо развитие методов их анализа, в связи с этим методы машинного обучения находят все большее применение. В работе исследуется действие токсикантов на фотосинтетический аппарат растений и фитопланктона. В задачу работы входило построение и обучение классификатора для выявления действия токсиканта по параметрам кривой индукции флуоресценции хлорофилла *a*. Форма кривой индукции флуоресценции меняется в зависимости от состояния растительного организма и может служить индикатором действия факторов стресса. Изменение состояния фотосинтетического аппарата может быть вызвано наличием в среде выращивания факторов стресса (в том числе токсикантов).

Исследовали действие тяжёлых металлов на проростки гороха и пробы природного фитопланктона. Проростки гороха *Pisum sativum* инкубировали на среде Кнопа с добавлением ионов меди Cu^{2+} в концентрации 20 и 40 мкМ или ионов кадмия Cd^{2+} (20 и 50 мкМ), пробы природного фитопланктона из девяти водоёмов Псковской области инкубировали при добавлении Cd^{2+} или Cr^{6+} (20 и 50 мкМ). На протяжении всего периода эксперимента (несколько суток) регулярно проводилась регистрация кривых индукции флуоресценции листьев гороха и проб с фитопланктоном. По кривым индукции флуоресценции были рассчитаны параметры ЛР-теста, которые затем были использованы для построения классификаторов типа «случайный лес». Задача данных классификаторов – выявление наличия или отсутствия токсиканта в пробе. В случае классификаторов для проростков гороха общая точность составила 67% для меди Cu^{2+} и 78% для кадмия Cd^{2+} . Точность определения контрольных проб без токсиканта оказалась ниже, чем для проб с токсикантом. В случае классификатора для фитопланктона общая точность составила 88%. Точность определения в разных водных объектах различается: в отдельных местообитаниях точность составляла менее 50%, а в других точность оказалась близка к 100%. Согласно полученным результатам, существуют перспективы применения данного метода при определении наличия токсикантов, в том числе в естественных местообитаниях.

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500060-0 при частичной поддержке гранта РФФИ № 20-64-46018 (Псковский государственный университет) и гранта РФФИ № 20-04-00465.

МОДЕЛЬ РЕГУЛЯЦИИ УГЛЕВОДНО-ЛИПИДНОГО ОБМЕНА Model of Regulation of Carbohydrate-Lipid Metabolism

Чистякова Ю.А., Плюснина Т.Ю.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, julie@earlcleen.com

Нарушения метаболизма могут вызывать различные тяжелые заболевания. В частности, нарушение липидно-углеводного обмена может приводить к развитию ожирения, атеросклероза и диабета. Правильный подбор соотношения белков, жиров и углеводов, поступающих с пищей, является одним из основных методов снижения риска развития этих заболеваний. Соответствующие диеты как правило подбираются эмпирическим путем.

Математическое моделирование различных процессов метаболизма в этой области направлено на разработку диет, адаптированных к конкретным особенностям организма, а также на выявление механизмов процессов распада и образования жировой ткани, углеводного обмена и др. Так в работах [1, 2] были предложены модели адипоцитов с учетом транспорта триглицеридов и глюкозы в клетку, образование жирных кислот и глицерина, ресинтез триглицеридов с образованием жирового депо. В работе [3] эти процессы были объединены и дополнены, что позволило авторам объяснить экспериментально наблюдаемую динамику.

В данной работе метаболические пути адипоцита, представленные в работе [3] были дополнены реакциями бета-окисления жирных кислот в миоците. Также была введена гормональная регуляция за счет инсулина и глюкагона. Модель представляет из себя систему дифференциальных уравнений, которые были записаны либо по закону действующих масс, либо по механизму Михаэлиса-Ментен. Модель была верифицирована на основании экспериментальных данных с применением типа питания, приводящего к набору веса [4]. Далее модель была исследована с точки зрения применения различных диет, таких как кето-диета, высокоуглеводная со сниженным количеством жиров и диета со сниженным содержанием и жиров, и углеводов. Было проведено сравнение двух-, трех- и четырехразового питания с различными интервалами между приемами пищи. Результаты моделирования показали, что для снижения веса наиболее оптимальной является диета с небольшим снижением количества потребляемых жиров и углеводов. К снижению веса ведут все три варианта диет, но высокоуглеводная и кето-диеты приводят к изменению концентраций глюкозы и триглицеридов крови до опасных для здоровья значений. Также было обнаружено, что на диете, приводящей к набору веса, при четырехразовом питании вес увеличивался медленнее, чем при двух- или трехразовом. Включение физических нагрузок так же способствует потере веса, при этом наблюдается возникновение автоколебаний концентрации жирных кислот в миоците, что предположительно играет регуляторную роль.

1. Sips F.L.P., Nyman E., Adiels M. et al. Model-Based Quantification of the Systemic Interplay between Glucose and Fatty Acids in the Postprandial state // PLoS ONE, 2015, vol. 10(9).

2. Jelic K., Hallgreen C.E., Colding-Jørgensen M. A Model of NEFA Dynamics with Focus on the Postprandial state // Ann. Biomed. Eng., 2009, vol. 37, p. 1897.

3. O'Donovan S.D., Lenz M., Vink R.G. et al. A computational model of postprandial adipose tissue lipid metabolism derived using human arteriovenous stable isotope tracer data // PLoS Comput. Biol., 2019, vol. 15 (10).

4. Pratt A.C., Wattis J.A.D., Salter A.M. Mathematical modelling of hepatic lipid metabolism // Mathematical Biosciences, 2015, vol. 262.

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ СПИРАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ Method for Determining the Chirality of Protein Helical Structures

Шпигун Д.К., Луценко А.О., Сидорова А.Э.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ
denish.den@mail.ru, aleksluchrus@yandex.ru, sky314bone@mail.ru

Хиральность как важнейшее геометрическое свойство молекулярно-биологических систем является предметом активных фундаментальных исследований как в нашей стране, так и за рубежом. Большое внимание уделяется решению задач, связанных с разработкой критериев и методов оценки хиральности биомолекул, а также выявлению зависимости структура – биологическая активность. В частности, на кафедре биофизики был разработан принципиально новый метод количественной оценки хиральности белковых структур, основанный на вычислении векторных произведений [1,2].

В данной работе представлен усовершенствованный метод, который, в отличие от предыдущего, позволяет более точно оценить хиральность спиральных белковых структур [3,4]. Метод основан на вычислении смешанных произведений векторов, полученных в результате соединения опорных точек – α -атомов углерода (Ca). Это позволяет на порядок снизить количество обрабатываемой информации, что является явным преимуществом при обработке больших массивов данных.

Проанализировано 983 белка из 12 классов, представленных в банке данных PDB [5]: 22 тыс. α -спиралей и 4.4 тыс. 3_{10} -спиралей. С использованием предложенного метода и посредством разработанной на кафедре биофизики компьютерной программы Python 3.7 построены карты хиральности вторичных структур белков, позволяющие однозначно идентифицировать правые и левые спирали [3,4]. Установлено, что полученная характеристика хиральности линейно зависит от числа атомов в спирали.

Анализ полученных данных показал, что, α -спирали и 3_{10} -спирали представлены, в основном, правыми структурами, что соответствует теории знакопеременных хиральных структур в иерархии белков [6].

1. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Kotov A.R. et al. Quantitative criteria of chirality in hierarchical protein structures // *Biophysics (Russian Federation)*, 2019, vol. 64, no. 2, pp. 155-166.

2. Луценко А.О., Сидорова А.Э. Количественная оценка хиральности спиральных структур белков // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2019, т. 4, № 3, с. 369-373.

3. 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.

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

5. The Protein Data Bank. URL: <http://www.rcsb.org/>

6. Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах // *Биофизика*, 2013, т. 58, № 1, с. 159-164.

СЕКЦИЯ 3. МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА И БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ОПТИМИЗАЦИИ ПЕРЕДАТОЧНОЙ ФУНКЦИИ ВЕСТИБУЛЯРНОГО ИМПЛАНТА Optimization of the Transmission Function of the Vestibular Implant

Акинина М. Д., Демкин В.П.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, *maakin1993@yandex.ru*

По данным исследований профессора Неухаузера Г.К. (2005) 7 млн человек имеют расстройства периферического вестибулярного анализатора (доброкачественное пароксизмальное позиционное головокружение, болезнь Меньера, вестибулярный нейронит), что приводит к потере работы и ухудшению качества жизни пациентов.

В случае односторонней потери вестибулярной функции возможно компенсаторное восстановление ее посредством функционирования одного из вестибулярных органов. При двусторонней вестибулярной дисфункции единственным методом лечения является имплантация искусственным протезом, с помощью которого возможно частично восстановить утраченные функции, позволяющие вести «нормальную жизнь».

Имеющиеся сегодня образцы вестибулярных имплантов далеки от совершенства, причиной тому являются проблемы, связанные с электропроводящими свойствами тканей вестибулярного лабиринта, оказывающими влияние на изменение характеристик стимулирующего импульса импланта, его амплитудно-частотных и фазовых параметров.

Основная идея вестибулярного импланта – это непосредственная электростимуляция вестибулярного нерва с помощью электрических импульсов определенной формы, частоты и амплитуды. Она базируется на том, что лабиринты здорового человека кодируют информацию о положении головы с помощью электрических импульсов, формируемых рецепторами (волосными клетками) вестибулярной системы. Качество вестибулярного импланта зависит от его передаточной функции, способности передавать стимулирующие импульсы от стимулирующего электрода на окончание вестибулярного нерва [1].

Новый тип бионного уха во многом сходен с кохлеарным (улиточным) имплантом, который восстанавливает слух путем электрической стимуляции участков слухового нерва. Он возвращает чувство равновесия благодаря стимуляции вестибулярного нерва, в норме передающего сигналы от вестибулярного лабиринта в головной мозг. Электрический контакт с нервом, обеспечиваемый имплантом, позволяет обойти поврежденную вестибулярную систему [1,2].

По данным исследований группы ученых университета Маастрихта (Нидерланды) и Томского государственного университета (Россия) (2015-2019) были выявлены функционально-технические недостатки имеющихся вестибулярных имплантов, которые связаны с влиянием электропроводящих свойств тканей вестибулярного лабиринта на ухудшение амплитудно-частотных и фазовых характеристик стимулирующего импульса импланта и ограничение его передаточной функции, не соответствующей требованиям качества жизни пациента [4].

Полученные, в работах ученых, формулы и проведенные расчеты амплитудных и фазовых характеристик стимулирующего тока на основе экспериментальных данных об электрофизических и анатомических характеристиках тканей вестибулярного лабиринта морской свинки позволили выявить закономерности распространения тока через ткани вестибулярного лабиринта [3,4].

На основе измеренных значений выходного сигнала на окончании вестибулярного нерва вычислена передаточная функция вестибулярного лабиринта при стимуляции нерва с верхнего, горизонтального и заднего полукружных каналов, и исследована ее частотная зависимость. Показано, что при возрастании частоты передаточная функция стремится к ее асимптотическому значению. Обнаружено, что передаточная функция вестибулярного лабиринта для стимулирующих импульсов, исходящих от электрода, расположенного в заднем полукружном канале значительно меньше, чем для стимулирующих импульсов от электродов, расположенных в верхнем и горизонтальном полукружных каналах.

Проведена оптимизация передаточной функции по параметрам эквивалентной электрической цепи замещения, соответствующей максимальному значению амплитуды выходного сигнала. Численный анализ показал, что при оптимальных параметрах электрической цепи увеличение передаточной функции возможно в 1.5 раза.

1. Fornos A.P., Guinand N., van de Berg R. et al. // *Frontiers in Neurology*, 2014, vol. 5, pp. 1-10.
2. Kosivtsova O.V., Yavorskaya S.A., Fateeva T.G. Vestibular vertigo treatment in a polymorbid patient // *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics*, 2018, vol. 10 (1), pp. 96-101.
3. Perez Fornos A., Guinand N., Van De Berg R. et al. Artificial balance: restoration of the vestibulo-ocular reflex in humans with a prototype vestibular neuroprosthesis // *Frontiers in Neurology*, 2014, vol. 5.

4. Demkin V.P., Melnichuk S.V., Shchetinin P.P. et al. Electrophysical properties and determination of the impedance of vestibular labyrinth tissues // Russian Physics Journal, 2019, vol. 61, no. 11, pp. 68-75.

ОСОБЕННОСТИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО И БЕНГАЛЬСКОГО РОЗОВОГО В ПРИСУТСТВИИ АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ Peculiarities of Methylene Blue and Rose Bengal Photosensitizing Properties of in the Presence of Amphiphilic Polymers

Аксенова Н.А.^{1,2}, Тимашев П.С.^{1,2,3}, Соловьева А.Б.¹

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва, РФ

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва, РФ, *naksenova@mail.ru*

³ Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ,

Метод фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении рака основан на способности некоторых веществ – фотосенсибилизаторов (ФС) – избирательно накапливаться в опухолевых клетках и при воздействии света определенной длины волны генерировать синглетный кислород 1O_2 и другие его активные формы, которые оказывают токсическое действие на опухолевые ткани [1]. В последнее время метод ФДТ стали применять при лечении гнойных ран, трофических язв, ожогов и других повреждений кожи, сформировалось отдельное направление в терапии ран – антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ) [1, 2]. По сравнению с традиционной противомикробной терапией, использующей, чаще всего, антибиотики, АФДТ обладает важными преимуществами, в частности, преодолевает множественную лекарственную устойчивость микроорганизмов, стабильно растущую последние годы, не вызывает резистентности [2]. В качестве ФС часто используют вещества, имеющие хлориновую (например, препарат Фотодитазин), порфириновую или фталоцианиновую природу, а также вещества непорфириновой природы, в частности, фенотиазиновый краситель метиленовый синий (МС), а также ксантоновый краситель бенгальский розовый (БР) [3, 4]. Непорфириновые фотосенсибилизаторы (НФС) имеют ряд преимуществ перед порфириновыми (хлориновыми) ФС. В частности, эти препараты достаточно дешевы. Кроме того, НФС (в отличие от порфиринов) имеют интенсивные полосы поглощения в красной и ближней инфракрасной ($\lambda = 620\text{--}850$ нм) областях спектра, где наблюдается наибольшее пропускание света живыми тканями. Также НФС обладают высокой фотостойкостью. В данной работе изучены фотосенсибилизирующие свойства МС и БР в отсутствие и в присутствии амфифильных полимеров в модельной реакции окисления триптофана синглетным кислородом.

Показано, что в наибольшей степени улучшают функциональные свойства НФС плуроники – блоксополимеры этилен- и пропиленоксида. Также показано, что при повышении концентрации НФС эффект повышения фотоактивности возрастает, тогда как для порфириновых ФС, как было показано ранее [5], влияние полимеров усиливалось при уменьшении концентрации фотосенсибилизаторов.

Высказаны предположения о протекании процессов дезагрегации НФС в результате взаимодействия красителей с амфифильными полимерами. Выводы о дезагрегации МС и БР в присутствии АП сделаны на основании анализа спектральных характеристик систем краситель-полимер и анализа методом светорассеяния размеров частиц вышеуказанных систем.

Работа выполнена в рамках Госзадания (№ 0082-2019-0012, АААА-А20-120021190043-7).

1. Hamblin M.R., Hasan T. // Photochemical & Photobiological Sciences, 2004, vol. 3, no. 5, pp. 436-450.
2. Странадко Е.Ф., Кулешов И.Ю., Караханов Г.И. // Лазерная медицина, 2010, т. 14, № 2, с. 52-56.
3. Tardivo J.P., Giglio A.D., De Oliveira C.S. et al. // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2005, vol. 2, no. 3, pp. 175-191.
4. Houang J., Perrone G.G., Pedrinazzi C. et al. // Advanced Therapeutics, 2019, vol. 2, iss.2, paper no. 1800105.
5. Горюх Ю.А., Аксенова Н.А., Соловьева А.Б. и др. // ЖФХ, 2011, т. 85, № 5, с. 959-963.

**ВЛИЯНИЕ МАГНИТОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРНЫХ ИНТЕРФЕЙСОВ НА
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**
*Analysis of the Physical Properties of Polymer-Based Biological Interfaces and Their Influence on Viability of
Neuronal Stem Cells*

**Антипова В.Н., Омельянчик А.С., Соболев К.В., Гриценко К.А., Колесникова В.Г., Хан И., Козлова Е.Н.,
Левада Е.В., Педдис Д., Амиров А.А., Родионова В.В.**

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ, *valya.antipova24@gmail.com*

Способность стволовых клеток дифференцироваться в разные типы клеток делает их интересными для применения в тканевой инженерии и регенеративной медицине. В настоящее время для контроля судьбы стволовых клеток используются различные факторы роста, но этот метод имеет ряд недостатков (высокая стоимость реагентов и ограниченное время воздействия на клетки). В недавних научных исследованиях было продемонстрировано, что судьба стволовых клеток зависит от их микроокружения, которое может влиять на механизмы механотрансдукции в клетках [1].

Микроокружение клеток должно быть аналогично естественному внеклеточному матриксу и обеспечивать действие различных сигналов: механических, биохимических и электрических. Способность обеспечивать действие этих факторов во многом зависит от выбора материала для изготовления каркаса биологического интерфейса. Использование пьезоэлектрического биосовместимого материала с магнитным наполнителем, обладающего механической лабильностью и способного оказывать электрическую стимуляцию на стволовые клетки, в качестве матрицы для биологического интерфейса позволит создать инструмент контроля параметров биофизического и биохимического микроокружения клеток [2]. Это необходимо, т.к. каждый тип клеток имеет свой оптимальный диапазон условий дифференцировки. Наиболее перспективным, с этой точки зрения, является использование магнитоэлектрических полимерных материалов.

Магнитоэлектрические полимерные композиты – материалы, состоящие из магнитного / магнитоэлектрического наполнителя и пьезополимерной матрицы или композиты на полимерной связке из сегнетоэлектрических и магнитных частиц. В этом классе материалов магнитоэлектрическая связь происходит за счет деформационных взаимодействий (упругой связи) магнитного наполнителя и пьезоэлектрических частиц или матрицы [3, 4]. Полимерные субстраты демонстрируют хорошую биосовместимость, что, наряду с мультиферроидными свойствами, делает их интересными для ряда биологических приложений. Сочетание этих свойств позволит создавать субстраты для культивирования стволовых клеток с дистанционно управляемыми физическими параметрами путем приложения внешнего магнитного поля.

В данной работе созданы нанокompозиты на основе полимера поливинилиденфторида (PVDF) и его сополимера поливинилиденфторид-трифторэтилена (PVDF-TrFE), модифицированного магнитными наночастицами (CoFe_2O_4 и $\text{Zn}_{0.25}\text{Co}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$) и пьезочастицами BaTiO_3 . Для всех образцов был проведен комплексный анализ физических и структурных свойств: рентгеноструктурный анализ, анализ магнитоэлектрических свойств, магнитная микроскопия и силовая микроскопия пьезоотклика. Были определены две стратегии улучшения магнитоэлектрического эффекта (α_{ME}): за счет упорядочивания кластеров магнитных наночастиц внешним магнитным полем и за счет включения пьезоэлектрических частиц в состав композитов. Разработанные стратегии позволили увеличить значение α_{ME} от ~ 5 мВ/см \cdot Э (PVDF-композит с случайным распределением магнитных наночастиц) до $\sim 18,5$ мВ/см \cdot Э (PVDF-TrFE-композит с добавлением пьезоэлектрических частиц). Образцы на основе PVDF были дополнительно протестированы на нейрональных стволовых клетках для анализа их влияния на активность стволовых клеток, выделенных на ранней стадии эмбрионального развития мыши [5].

1. Stanton A.E., Tong X., Yang F. Extracellular matrix type modulates mechanotransduction of stem cells // *Acta Biomater.* 2019, vol. 96, pp. 310-320. doi: 10.1016/j.actbio.2019.06.048
2. Lee Y.S., Arinzeh T.L. The Influence of Piezoelectric Scaffolds on Neural Differentiation of Human Neural Stem/Progenitor Cells // *Tissue Eng., 2012, Part A*, 18, pp. 2063-2072. doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0540
3. Martins P., Silva M., Reis S. et al. Wide-Range Magnetoelectric Response on Hybrid Polymer Composites Based on Filler Type and Content // *Polymers*, 2017, vol. 9, p. 62. doi: 10.3390/polym9020062
4. Martins P., Lanceros-Méndez S. Polymer-based Magnetoelectric Materials // *Adv. Funct. Mater.*, 2013, vol. 23, pp. 3371-3385. doi: 10.1002/adfm.201202780
5. Omelyanchik A., Antipova V., Gritsenko C. et al. Boosting Magnetoelectric Effect in Polymer-Based Nanocomposites // *Nanomaterials*, 2021, vol. 11, p. 1154. doi: 10.3390/nano11051154

ПАТТЕРНЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ КОННЕКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ ПО ДАННЫМ ФМРТ ПОКОЯ
Patterns of the Functional Connectivity of the Brain in Normal and During Temperature Epilepsy According to fMRI Rest

Архипова А.А., Каримова Е.Д.

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

Эпилепсия – одно из древнейших заболеваний головного мозга человека. С появлением метода функциональной МРТ стало возможным изучить регулярные и патологические изменения связей между нейронными сетями головного мозга. Посредством фМРТ легко визуализировать области возбуждения головного мозга в результате наличия BOLD-эффекта. В данной работе рассматриваются корреляции зарегистрированного в различных областях мозга BOLD-сигнала в состоянии покоя (resting state), что даёт возможность исследовать функциональную коннективность головного мозга человека в норме и при височной эпилепсии. Методика фМРТ покоя позволяет определить межнейронные связи в состоянии спонтанной деятельности головного мозга, не получающего заданного каким-либо стимулом поручения.

Целью данной работы является выявление характерных особенностей функциональной коннективности головного мозга у пациентов с височной эпилепсией и проведение сравнительного анализа с контрольной группой здоровых испытуемых.

Методика исследования. В исследовании принимали участие 10 пациентов с височной эпилепсией и 5 здоровых добровольцев. Всем пациентам была проведена процедура МРТ головного мозга на сканере EXCEL ART VantageAtlas-X (Toshiba, Япония) с индукцией магнитного поля 1.5 Тесла. Во время сканирования испытуемые находились в состоянии спокойного бодрствования с открытыми глазами и были проинструктированы стараться не думать ни о чем конкретном. Исследование проводилось в стандартных для эпилептического протокола сканирования режимах. Общая продолжительность сессии сканирования составляет 59 минут 38с.

Для получения анатомического изображения головного мозга была использована последовательность T1 3D MP-RAGE Ax (TR=13 мс, TE= 5 мс, матрица реконструкции – 256×256, толщина слоя – 1 мм).

Для получения функциональных изображений активности головного мозга была использована последовательность T2* EPI (TR=3.7с, TE= 40 мс, матрица реконструкции – 64×64, толщина слоя – 3,4 мм, 133 объема по 30 срезов).

Обработка и анализ фМРТ изображений были проведены с помощью открытого программного обеспечения CONN (<http://www.conn-toolbox.org>), работающего на базе MATLAB®/SPM (The MathWorks, Inc.). Обработка изображений включала в себя: коррекцию временного и пространственного сдвига функциональных изображений, корегистрацию со структурным изображением (T1 3D MP-RAGE), нормализацию в стандартное MNI-пространство, сглаживание с Гауссовым ядром (FWHM 6мм), применение фильтра для BOLD-сигнала (0,01–0,1 Гц), выделение усредненного BOLD-сигнала для отдельных областей интереса, проведение корреляционного анализа сигналов из разных областей интереса, анализ данных с помощью метода независимых компонент. Для анализа ФК была использована общая линейная модель (GLM). Сравнение между группами были проведены с помощью двухвыборочного t-теста.

В рамках данной работы были получены результаты сравнительного анализа коннективности при уровне статистической значимости, не превышающем $p=0,01$, были получены различия в уже известных сетях покоя головного мозга, а также были исследованы височные зоны.

По полученным результатам были выявлены характерные особенности функциональной коннективности как уже известных сетей покоя, так и областей височного отдела у пациентов с эпилепсией и у контрольной группы. Выявлены наиболее пораженные объекты головного мозга: парасингулярная извилина, центральная извилина. Затронута часть сети пассивного режима работы головного мозга и сенсомоторная сеть. Анализ височной зоны показал заметное поражение связности языковой сети с частями верхней и средней височной извилины, связность между правым и левым передним отделом нижней височной извилины, а также средней височной извилины с правым височным полюсом.

1. Buxton R.B., Frank L.R. A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation // *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1997, vol. 17, no. 1, pp. 64-72.
2. Ogawa S., Lee T., Nayak A.S., Glynn P. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance imaging of rodent brain at high magnetic fields // *Magn. Reson. Med.*, 1990, vol. 14 (1), pp. 68-78.
3. Shmuel A., Maier A. Locally measured neuronal correlates of functional MRI signals // *fMRI: From nuclear spins to brain functions*. Springer, 2015, pp. 105-128.

БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ПЛАЗМЫ КРОВИ, ВЫЯВЛЕННЫЕ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ
Biomechanical Properties of Blood Plasma Extracellular Vesicles Revealed by Atomic Force Microscopy

Байрамуков В.Ю., Букатин А.С., Ланда С.Б., Бурдаков В.С., Штам Т.А., Федерова Н.Д., Филатов М.В.
 Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,
 г. Гатчина, РФ, *bayramukov_vy@pnpi.nrcki.ru*

К настоящему времени практическое применение внеклеточных частиц в биомедицине представляет значительный интерес, что обусловлено их способностью участвовать в межклеточном взаимодействии, переносить биоматериал и, таким образом, выступать в качестве специфических доставщиков лекарственных препаратов. Однако, вследствие наноразмера, исследование биомеханических характеристик внеклеточных частиц затруднено. Подобные исследования *in situ* особенно важны, поскольку могут определять стратегию нагрузки, устойчивость, потенциал взаимодействия с клеткой-реципиентом.

Методом дифференциального ультрацентрифугирования нами выделены внеклеточные частицы из образцов плазмы крови и выявлены биомаркеры, характерные для экзосом и экзомов. Мы применили подходы количественного картирования наномеханических свойств посредством атомно-силовой микроскопии (АСМ) для характеристики частиц на воздухе и в жидкости. Измерения на воздухе экзосом размером ~ 70 нм выявили необратимую деформацию внутренней полости, в которой сосредоточены высокоадгезионные сайты (рис.1). Напротив, экзомы размером ~ 35 нм не деформируются на воздухе и специфическая адгезия зонда АСМ регистрировалась на периферии частиц. Жидкостные измерения экзосом выявили обратимую деформацию внутренней полости и незначительную деформацию по периферии частиц, что связано с наличием липидного бислоя. Напротив, экзомы не деформируются в жидкости, как и на воздухе, и наблюдаемый размер наночастиц составил ~ 16 нм. Мы связываем различие в размерах для данных немембранных частиц с высокой сорбцией воды на воздухе, что, по всей видимости, коррелирует с их функциональными особенностями. Выявленные характеристики согласуются с хорошо известной структурой и функциями экзосом и впервые показаны для экзомов. Кроме того, внеклеточные частицы классифицированы по модулю Юнга, который оказался в 100-1000 раз больше, чем аналогичный для клеток-предшественников [1].

В результате АСМ исследований получены новые данные о структуре внеклеточных частиц *in situ*, которые недоступны для методик электронной микроскопии и полуконтактной АСМ [2]. Предложенные подходы позволяют получить новые фундаментальные знания и могут быть полезны в практических биомедицинских исследованиях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта № 20-54-00011.

1. Bairamukov V., Bukatin A., Landa S. et al. Biomechanical Properties of Blood Plasma Extracellular Vesicles Revealed by Atomic Force Microscopy // *Biology*, 2021, vol. 10, p. 4. doi: 10.3390/biology10010004
2. Naryzhny S., Volnitskiy A., Kopylov A. et al. Proteome of Glioblastoma-Derived Exosomes as a Source of Biomarkers // *Biomedicines*, 2020, vol. 8, p. 216. doi: 10.3390/biomedicines8070216

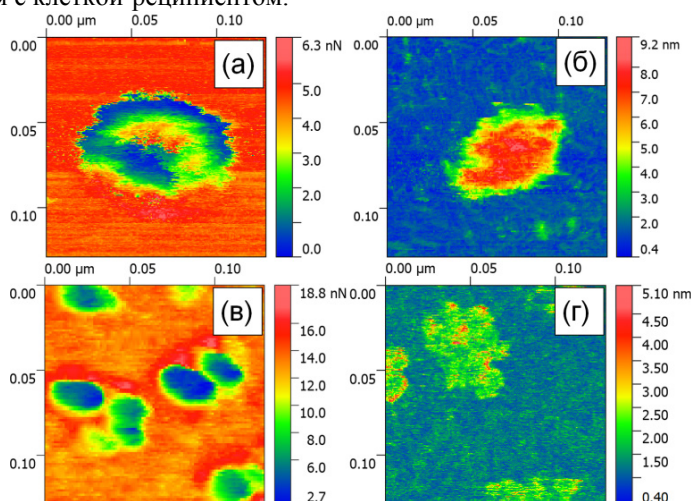


Рисунок 1. Сравнение карт распределения адгезии на воздухе и деформации в жидкости для экзосом (а–б) и экзомов (в–г)

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕЛЕКТИВНОГО МАРКИРОВАНИЯ
РЕКОМБИНАТНЫХ БЕЛКОВ-МИШЕНЕЙ И РАЗРАБОТКА ПУТЕЙ СИНТЕЗА
МОДИФИЦИРОВАННЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК CdTe В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ**
Study of the Technology of the Recombinate Target Protein Selective Labeling and Development of the Synthetic
Routes for the Modified CdTe Quantum Dots Synthesis in Aqueous Solutions

Беликов Н.Е.¹, Демина О.В.¹, Лукин А.Ю.², Петровская Л.Е.³, Складнев Д.А.⁴, Варфоломеев С.Д.¹,
Ходонов А.А.¹

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, *khodonov@gmail.com*

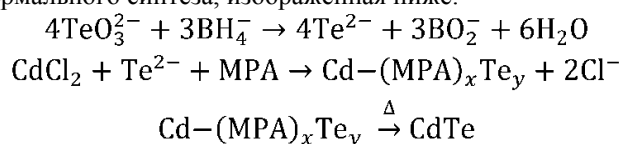
² МИРЭА – Российский технологический университет, г. Москва, РФ

³ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, РФ

⁴ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ

Стабильность и широкий диапазон оптических параметров флуоресценции квантовых точек (quantum dots, QDs), делают их наиболее перспективными флуорофорами для применения в различных областях.

Для разработки протоколов селективного мечения различных рекомбинантных белков-мишеней, содержащих гексагистидиновый тег, нам необходимо было разработать технологию получения высококачественных препаратов CdTe QDs, модифицированных различными лигандами в водных растворах. Среди известных в литературе вариантов гидротермального синтеза препаратов CdTe QDs: а) генерация предшественника (Te²⁻) – раствора теллуридоводорода (H₂Te) *in situ* из системы Al₂Te₃ / H₂SO₄, б) генерация предшественника (Te²⁻) – раствора NaHTe *in situ* из системы Te / NaBH₄, в) генерация предшественника (Te²⁻) *in situ* из Me₂TeO₃ восстановлением NaBH₄, нами была выбрана и существенно модифицирована технология получения препаратов водорастворимых квантовых точек CdTe, стабилизированных серусодержащими лигандами, методом гидротермального синтеза, изображенная ниже:



В качестве исходных предшественников нами были выбраны наиболее доступные соли Cd и Te. Проведенные пилотные эксперименты позволили подобрать и оптимизировать следующие параметры процесса: порядок смешения реагентов, их соотношение, температуру основной реакции, pH основной реакции (значения диапазона pH от 9 до 12), выбор серу-содержащих лигандов и восстановителя, температурные параметры и длительность рефлюсинга реакционной массы, растворитель для процедуры размер-селективного осаждения, скорость и длительность центрифугирования. Был протестирован ряд различных серу-содержащих лигандов с терминальной полярной карбоксильной группой (среди них наиболее оптимальным лигандом оказалась 3-меркаптопропионовая кислота), Спектральные данные синтезированных препаратов CdTe, стабилизированных 3-меркаптопропионовой кислотой, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Физико-химические характеристики препаратов CdTe QDs

	pH 9	pH 12
Максимум основного пика в спектре флуоресценции, нм	520	642
Ширина полосы флуоресценции при половине высоты FWHM, нм	45	70
Максимум длины волны поглощения первого экситона, нм	488 (±3)	610 (±10)
Диаметр частиц, нм	1,9 (±0,2)	3,7 (±0,2)
Коэффициент молярной экстинкции, (л·моль ⁻¹ ·см ⁻¹)	4,3(±0,9)·10 ⁴	1,6(±0,2)·10 ⁵

Таким образом, нами была разработана и успешно апробирована технология получения линейки препаратов CdTe QDs с запрограммированными оптическими параметрами флуоресценции от 520 до 642 нм.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-03-00139.

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ МИОКАРДА ПРИ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ У КРЫС И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ КОРРЕКЦИИ С ПОМОЩЬЮ РЕГУЛЯТОРОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА
Structural and Functional Disorders of Myocardial Mitochondria in Hypertrophic Cardiomyopathy in Rats and the Possibility of Their Correction Using Regulators of Oxidative Stress

Белослудцева Н.В.¹, Урюпина Т.А.¹, Таланов Е.Ю.¹, Белослудцев К.Н.¹, Степанов М.Р.², Ананиян М.А.², Павлик Л.Л.¹, Миронова Г.Д.¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино Московской области, РФ

² ООО Продвинутые Технологии, Москва, РФ, nata.imagination@gmail.com

Кардиомиопатии относятся к наиболее тяжелым патологиям миокарда, характеризующимся резистентностью к проводимой терапии и высокой смертностью. Основные изменения в клетках миокарда при данной патологии связаны с развитием митохондриальной дисфункции и окислительного стресса. Известно, что дыхательная цепь митохондрий является главным внутриклеточным источником образования АФК и при гиперпродукции последних широко используют терапию с помощью антиоксидантов. В настоящее время накапливаются данные о том, что активация митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала (митоK_{ATФ}) препятствует развитию окислительного стресса и обладает кардиопротекторным эффектом. Активация митоK_{ATФ} с помощью введения животным уридина, являющегося предшественником активатора канала УДФ, способствует сохранению уровня макроэргических соединений в ишемизированном миокарде [1]. Известно также, что окислительный стресс можно нивелировать также биофлавоноидами, в частности дигидрокверцитином (ДГК). Установлено, что ДГК в форме водорастворимых наноструктур в матрице поливинилпирролидона (Таксифолин Аква) обладает мощным антиоксидантным действием, превышающим известные природные аналоги [2].

Целью настоящей работы являлось изучение структурно-функциональных изменений митохондрий сердца крыс при гипертрофической кардиомиопатии (ГК) и определение возможности их коррекции с помощью регуляторов окислительного стресса – дигидрокверцитина и уридина. Для этого была произведена модель ГК у крыс путем введения агониста β-адренорецепторов изопrenalина (150 мг/кг, п/к) двукратно, с интервалом 24 ч. Уридин вводился перед каждой инъекцией изопrenalина в ранее подобранной дозе (30 мг/кг, в/б). Изменения наблюдали через 24 ч после последней инъекции. Дигидрокверцитин в водорастворимой форме (Таксифолин Аква) добавляли в питьевую воду индивидуально каждому животному в расчете 15 мг/кг веса ежедневно. Изменения наблюдали после 14-дневного курсового применения ДГК.

Обнаружено, что ГК сопровождается увеличением относительной массы сердца, тогда как применение уридина и ДГК предотвращало гипертрофические изменения ткани. С целью выявления ультраструктурных изменений, был проведено электронно-микроскопическое исследование образцов ткани миокарда (область верхушки сердца) крыс у крыс в исследуемых группах. Показано, что введение изопrenalина вызывало дегенеративные изменения мышечных волокон, имеющие очаговый характер. В зоне некроза происходило разрушение мышечных волокон. Митохондрии были в набухшем состоянии, наблюдались разрывы наружной мембраны, разрушение митохондриальных крист. Применяемые схемы введения уридина и, в особенности, ДГК снижали развитие мелкоочаговых некротических изменений миокарда, которые могут быть связаны с нарушением кровоснабжения и развитием гипоксии в небольших участках миокарда. На изолированных митохондриях сердца с помощью полярографического метода было установлено, что ГК сопровождалась снижением показателей дыхательного контроля и АДФ/О, тогда как применение уридина и ДГК достоверно повышало показатели эффективности синтеза АТФ в органеллах. Обнаруженное кардиопротекторное действие уридина может быть связано с увеличением количества субъединиц комплексов I и III дыхательной цепи митохондрий, а также содержания митохондриальной ДНК относительно соответствующих уровней при патологии. Применение уридина и ДГК также существенно снижало интенсивность свободно-радикальных процессов и препятствовало снижению скорости транспорта калия, отражающего функционирование митоK_{ATФ}, в митохондриях сердца крыс с кардиомиопатией. Обнаруженный эффект может быть связан с реактивацией митоK_{ATФ}, опосредованной повышением концентрации в клетках эффективного активатора этого канала, УДФ.

Полученные данные указывают на защитное действие уридина и ДГК в отношении развития митохондриальной дисфункции и окислительного повреждения органелл. Используемые соединения могут быть рекомендованы к использованию в качестве средства для профилактики и метаболической защиты миокарда при сердечно-сосудистых патологиях.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00029 А.

1. Крылова И.Б., Бульон В.В., Селина Е.Н. и др. Влияние уридина на энергетический обмен, ПОЛ и антиоксидантную систему в миокарде в условиях острой коронарной недостаточности // Бюлл. эксп. биол. мед., 2012, т. 155, № 5, с. 596-599. doi: 10.1007/s10517-012-1787-4

2. Tang Z., Yang C., Zuo B. et al. Taxifolin protects rat against myocardial ischemia/reperfusion injury by modulating the mitochondrial apoptosis pathway // Peer J., 2019, vol. 7, p. e6383. doi: 10.7717/peerj.6383

ЭФФЕКТЫ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ В ОТНОШЕНИИ КУЛЬТУРЫ НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ПОДВЕРГНУТЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Effects of Different Photobiomodulation Modes on the Culture of Normal Cells Exposed to Ionizing Radiation

Белотелов А.Б.¹, Черкасова Е.И.¹, Масленникова А.В.^{1,2}

¹ Университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, РФ, arteom.belotelow@yandex.ru

² Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород, РФ

Фотобиомодуляция (низкоинтенсивная лазерная/светодиодная терапия или ФБМ) в настоящее время все шире используется для профилактики и коррекции побочных эффектов лучевой и химиотерапии злокачественных новообразований, поскольку обладает иммунокорригирующим и обезболивающим действием, а также стимулирует пролиферативную активность клеток [1]. В течение многих лет низкоинтенсивное излучение красного/инфракрасного спектра использовалось в медицине эмпирически, на основе положительного клинического опыта. До настоящего времени отсутствовала надежная информация относительно оптимальных режимов сочетания фотобиомодуляции и ионизирующего излучения, которые позволили стимулировать регенерацию нормальных тканей и защитить их от воздействия ионизирующего излучения [2].

Целью данной работы было изучение адаптивных и стимулирующих эффектов ФБМ видимого красного диапазона в отношении клеточной линии фибробластов человека hTertBJ5ta (ATCC^oR CRL4001TM), подвергнутых воздействию гамма-излучения.

Исследовались возможный адаптивный и стимулирующий эффект ФБМ в отношении фибробластов человека hTert-BJ5ta. Для изучения адаптивного эффекта на клетки воздействовали различными режимами ФБМ, флюенс составлял 3 мДж/см² - 2 Дж/см² (таблица 1.), после воздействия, через час, клетки облучались ионизирующим излучением в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр. Для изучения стимулирующего эффекта ФБМ очередность воздействия ФБМ и ионизирующего излучения менялась местами. Через сутки после облучения проводилась оценка жизнеспособности клеток методом МТТ теста, в качестве контроля использовались клетки, облученные только ионизирующим излучением.

Таблица 1. Режимы ФБМ использованные в работе

Аппарат	Длина волны, нм	Интенсивность, мВт/см ²	Время, с	Флюенс, Дж/см ²
REIR-4	640±11	1	3	0,003
			30	0,03
			300	0,3
CDM-08	640±11	16	30	0,5
			62	1
			125	2

Были выявлены адаптивные эффекты ФБМ в отношении клеток фибробластов hTertBJ5ta. Воздействие ФБМ до гамма-облучения, при некоторых режимах ФБМ, вызвало статистически значимое, по сравнению с контролем, увеличение пролиферации клеток через сутки после воздействия. При облучении клеток ионизирующим излучением до воздействия фотобиомодуляции, ФБМ в большинстве случаев также вызвало повышение пролиферативной активности и увеличение, по сравнению с контролем, числа выживших клеток.

Благодарность: Российскому фонду фундаментальных исследований за финансовую поддержку (проект № 20-02-00531).

1. Avci P., Gupta A., Sadasivam M. et al. Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring // *Semin Cutan Med Surg.*, 2013, vol. 32, pp. 41-52.

2. Mothersill C., Seymour C.B. Relevance of radiation-induced bystander effects for environmental risk assessment // *Radiats Biol Radioecol.*, 2002, vol. 42, no. 6, pp. 585-587.

ПОЛОВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛОС ПОГЛОЩЕНИЯ ЛИПИДОВ НА ИК СПЕКТРАХ СЛЮНЫ

Gender and Age Features of Lipid Absorption Bands in the IR Spectra of Saliva

Бельская Л.В., Сарф Е.А.

Омский государственный педагогический университет, г. Омск, РФ, *belskaya@omgpu.ru*

Целью данной работы являлось изучение липидного профиля слюны методом ИК спектроскопии в норме в зависимости от пола и возраста добровольцев.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие добровольцы (58 мужчин, средний возраст 46,4 года и 42 женщины, средний возраст 50,5 лет), которые были разделены на подгруппы по возрасту (30-49 лет и старше 50 лет). В качестве материала для биохимических исследований использовали слюну. Определение липидов проведено методом Фолча в модификации авторов, в которой после экстракции липидов смесью хлороформ/этанол проводят определение липидов методом ИК спектроскопии [1]. Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни.

Результаты. Показано, что при сравнении групп только по полу статистически достоверно отличаются интенсивности полос поглощения (ПП) 1396 и 1458 см^{-1} , а также соотношение 1458/1396 см^{-1} (табл. 1). Дополнительный учет возраста добровольцев позволил установить, что в группе женщин возраст значимо не влияет на характеристики ИК спектров, тогда как для группы мужчин этот фактор является важным (табл. 2). Установлено, что с возрастом растет интенсивность ПП 1458 см^{-1} и снижаются интенсивности ПП 2923 и 2957 см^{-1} . В целом, как для женщин, так и для мужчин показано, что с возрастом увеличиваются коэффициенты 2923/2957 и 1458/1396 см^{-1} (табл. 2), однако различия статистически значимы только для ПП 1396 и 1458 см^{-1} .

Таблица 1. Интенсивность ПП на ИК спектрах слюны в зависимости от пола

ПП, см^{-1}	Женщины, n=42	Мужчины, n=58	p-value
1396	3,24 [1,78; 4,03]	1,33 [1,15; 2,44]	0,0000*
1458	6,04 [2,95; 7,12]	3,21 [2,22; 4,53]	0,0020*
2853	7,85 [6,22; 11,65]	8,14 [6,27; 10,49]	0,7171
2923	13,86 [10,22; 19,10]	13,20 [10,60; 16,02]	0,4119
2957	2,60 [1,89; 3,00]	2,27 [1,81; 2,57]	0,0514
2923/2957	5,50 [4,37; 7,27]	5,70 [4,94; 7,18]	0,2896
1458/1396	1,72 [1,55; 1,98]	2,09 [1,74; 2,56]	0,0001*

Таблица 2. Интенсивность ПП на ИК спектрах слюны в зависимости от пола и возраста

ПП, см^{-1}	Женщины		Мужчины		p-value
	30-49 лет, n=18	Старше 50 лет, n=24	30-49 лет, n=37	Старше 50 лет, n=21	
1396	3,53 [1,84; 3,70]	3,24 [1,78; 4,04]	1,34 [1,22; 1,49]	1,30 [1,05; 2,46]	#, \diamond
1458	5,67 [2,95; 7,12]	6,38 [3,03; 7,10]	2,37 [2,08; 3,87]	3,42 [3,04; 5,01]	*, #, \diamond
2853	8,28 [5,80; 12,58]	7,57 [6,22; 10,99]	8,11 [6,39; 10,50]	8,29 [6,08; 8,74]	
2923	13,9 [10,1; 20,2]	13,9 [10,4; 17,6]	13,7 [11,2; 17,1]	12,6 [9,6; 13,6]	
2957	2,64 [1,90; 3,03]	2,21 [1,87; 2,85]	2,41 [2,07; 2,64]	1,91 [1,59; 2,28]	*, \diamond
2923/2957	5,23 [4,47; 7,57]	5,53 [4,15; 6,94]	5,56 [4,87; 6,68]	6,34 [5,27; 7,76]	
1458/1396	1,70 [1,54; 1,98]	1,77 [1,57; 2,04]	1,97 [1,68; 2,40]	2,28 [1,95; 3,07]	*, #, \diamond

Примечание. * – различия между мужчинами разного возраста статистически значимы; # – различия между мужчинами и женщинами в группе 30-49 лет статистически значимы; \diamond – различия между мужчинами и женщинами в группе старше 50 лет статистически значимы, $p < 0,05$.

Таким образом, показано, что липидный профиль зависит от пола, а для мужчин еще и от возрастной группы, что должно учитываться при планировании дизайна исследования и формировании групп.

1. Bel'skaya L.V., Sarf Ye.A., Solomatin D.V. Determination of the quantitative content of lipids in biological material by IR spectroscopy // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2019, vol. 64, no. 4, pp. 204-209.

ВЛИЯНИЕ H₂S НА Ca²⁺-ЗАВИСИМУЮ КАЛИЕВУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Effect of H₂S on the Ca²⁺-Dependent Potassium Permeability of the Erythrocyte Membrane in Metabolic Syndrome

Бирулина Ю.Г., Буйко Е.Е., Шайбекова Р.Р., Смаглий Л.В., Петрова И.В., Гусакова С.В.
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, РФ, birulina20@yandex.ru

Эритроциты периферической крови традиционно используются в качестве модели для изучения ионного транспорта плазматические мембраны в норме и при патологии. Нарушение структуры эритроцитарной мембраны, зачастую, происходит при метаболических нарушениях и находит свое отражение в изменении проводимости Gardos-каналов – Ca²⁺-зависимых калиевых каналов (K_{Ca}-каналов) [1, 2]. Регуляция последних сопряжена с модификацией сульфгидрильных групп (SH-групп), которыми богаты белки мембраны и цитоскелета эритроцитов. Сероводород (H₂S), в свою очередь, в последнее время рассматривается как перспективный цитопротекторный фактор, участвующий в регуляции ионного транспорта в эритроцитах [3].

В исследовании использовано 23 крысы-самца линии Wistar, которые были рандомизированы на контрольную и опытную группу (по 11 и 12 животных в каждой группе). Крысы контрольной группы содержались на стандартной диете. Крысы опытной группы получали высокожировую и высокоуглеводный рацион в течение 12 недель. Материалом для исследования служили осажденные эритроциты, которые получали путем центрифугирования (1000 g, 4⁰C) гепаринизированной крови животных, при этом плазму и клетки белой крови удаляли. Для регистрации изменений мембранного потенциала (МП) эритроцитов использовали потенциометрический метод, основанный на том, что в присутствии протонифора СССР распределение протонов зависит от МП (E_m): E_m = RT/F (pH_i – pH_o), где pH_i и pH_o – значения pH цитоплазмы и среды инкубации, соответственно. Донор H₂S (NaHS) добавляли в инкубационную среду в концентрациях 5-200 мкМ и оценивали его действие на амплитуду гиперполяризационного ответа (ГО) эритроцитов. Уровень восстановленного глутатиона (GSH) определяли ферментативным методом в лизате эритроцитов.

Внесение в суспензию эритроцитов кальциевого ионофора A23187 (0,5 мкМ) либо электронно-донорной системы аскорбат (10 мМ) – феназинметосульфат (ФМС, 0,1 мМ) приводило к развитию гиперполяризационного ответа (ГО), который в обоих случаях обусловлен открыванием Ca²⁺-зависимых K⁺-каналов. Амплитуда ГО, стимулированного A23187, снижалась у эритроцитов крыс с метаболическим синдромом (МС) на 13% (n=6, p<0,05) по сравнению с данными, полученными у животных контрольной группы. В то же время в этих условиях не отмечалось изменения скорости развития ГО и скорости восстановления МП эритроцитов крыс обеих групп. Амплитуда ГО, полученного при добавлении к суспензии эритроцитов электронно-донорной системы аскорбат-ФМС, повышалась на 17% (n=6, p<0,05) у крыс с МС по сравнению с амплитудой ГО крыс контрольной группы. Увеличение амплитуды аскорбат-ФМС-индуцированного ГО мембраны эритроцитов, наблюдаемое у животных с МС, свидетельствует о повышенной активности Gardos-каналов эритроцитарной мембраны. Последнее можно связать либо с увеличением времени открытого состояния K_{Ca}-каналов, либо с увеличением проводимости одиночных каналов. Однако нельзя исключить, что система аскорбат-ФМС, приводя к образованию редокс-агентов, оказывает свое влияние на Ca²⁺-зависимую калиевую проницаемость мембраны эритроцитов опосредованно через SH-группы. Уровень GSH в эритроцитах контрольной группы животных составил 13,7±2,1 мкМ/г Hb, в экспериментальной – 7,3±0,7 мкМ/г Hb (p<0,05). Учитывая, что роль глутатиона в клетках связана с восстановлением дисульфидных связей, можно предположить, что снижение его содержания в эритроцитах крыс опытной группы отразится на состоянии Gardos-каналов через модификацию тиоловых групп белков. Добавление NaHS в концентрациях (5-200 мкМ) в суспензию эритроцитов приводило к дозозависимому снижению амплитуды A23187- и редокс-зависимого ГО мембраны клеток крыс опытной группы, причем максимальное снижение отмечено в присутствии 100 мкМ донора H₂S.

Полученные различия исследуемых параметров у крыс использованных групп, вероятно, связаны либо с конформационными перестройками структурных белков Ca²⁺-зависимых K⁺-каналов, либо с нарушениями со стороны регуляторных белков, влияющих на Ca²⁺-зависимую калиевую проницаемость эритроцитов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-143.2020.4).

1. Saklayen M.G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome // *Curr. Hypertens. Rep.*, 2018, vol. 20, no. 2, p. 12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z
2. Gyawali P., Richards R.S. Association of altered hemorheology with oxidative stress and inflammation in metabolic syndrome // *Redox Rep.*, 2015, vol. 20, no. 3, pp. 139-144. doi: 10.1016/j.bcmed.2015.01.005
3. Desai K.M., Chang T., Untereiner A., Wu L. Hydrogen sulfide and the metabolic syndrome // *Expert Rev. Clin. Pharmacol.*, 2011, vol. 4, no. 1, pp. 63-73. doi: 10.1586/ecp.10.133

**ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
ЦИТОХРОМА С ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТОЙ**
Fluorescent Study of Conformational Changes of Cytochrome C During Interaction with Phosphatidic Acid

Благова А.В., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Минздрава России, г. Москва, РФ, annablagova2000@mail.ru

Взаимосвязь структурных и функциональных свойств белков участвующих в патогенезе различных заболеваний, является одним из главных направлений современной молекулярной медицинской биофизики. Социальную значимость таких исследований сложно переоценить, так как в итоге они направлены на разработку методов диагностики и лечения почти любых заболеваний, начиная от очень актуальной сегодня проблемы борьбы в новой коронавирусной инфекцией до таких даже более значимых тем как диабет, онкология и заболевания сердечно-сосудистой системы. Так недавно показана связь COVID-19 с гибелью бета-клеток при сахарном диабете по механизму апоптоза[1], а про роль апоптоза в развитии онкологии мировая литература насчитывает уже 100 000 публикаций.

При исследовании молекулярных механизмов апоптотических процессов выделяют, в частности, митохондриальный механизм, который характеризуется увлечением пероксидазной активности цитохрома с. Однако данному событию предшествует взаимодействие цитохрома С с анионными фосфолипидами митохондриальных мембран. На сегодняшний день хорошо известно, что взаимодействие цитохрома С с кардиолипином приводит в выраженному изменению конформации цитохрома, как в области гема, так и менее выражено в окружающих областях белка. Тем не менее возможность других анионных фосфолипидов изменять конформацию цитохрома с остается плохоизученной. В нашей работе мы сравниваем действие кардиолипина и фосфатидной кислоты на структурные преобразования цитохрома с, которые могут иметь значение в развитии апоптотических процессов. Сравнительное структурное исследование цитохрома с выполнялось при помощи спектрофлуориметрии и оценки движения остатков триптофана-59 и тирозина-67 в цитохроме при его взаимодействии с фосфатидной кислотой или кардиолипином.

Было установлено, что титрование цитохрома С возрастающими концентрациями липосом, содержащих фосфатидную кислоту или кардиолипин, приводит к изменению интенсивности флуоресценции. Так добавление цитохрома с к липосомам содержащим 100% ди-олеил-фосфатидилхолина (DOPC) не приводит к его структурным изменениям, однако действие липосом содержащих 20% примесь ди-олеил-фосфатидной кислоты (DOPA) или тетра-олеил-кардиолипина (TOCL) способствует возрастанию флуоресценции триптофана-59 примерно в 21 и 23 раза, соответственно, что говорит о его отдалении от тушащего флуоресценцию железа гема. Одновременно происходит увеличение отношения интенсивностей флуоресценции тирозина к флуоресценции триптофана. Так для комплексов цитохрома С с TOCL данное отношение изменяется от 0,5 до 0,7, а для аналогичных комплексов, но в присутствии DOPA от 0,5 до 0,9. Интенсивности флуоресценции тирозина предварительно рассчитывались путем вычитания спектров испускания, записанных при длине волны возбуждения 270 нм и 295 нм, а интенсивность флуоресценции триптофана записывалась при длине волны возбуждения 295 нм. Для расчёта отношения интенсивностей флуоресценций тирозина к триптофану использовались значения при 310 нм и 335 нм соответственно. Данное изменение может объясняться увлечением расстояния между тирозином и триптофаном, в результате чего изменяется эффективность миграции энергии между ними. Однако и то, что характер изменений разный может говорить еще и об отличиях в механизмах конформационного преобразования цитохрома с в присутствии кардиолипина и фосфатидной кислоты. Данное отличие было бы незаметным, если бы мы измеряли только флуоресценцию триптофана.

Полученный результат подтверждает, что связывание цитохрома с DOPA-содержащими липосомами сравнимо со связыванием с TOCL-содержащими липосомами, и, следовательно, может принимать участие в развитии процессов запрограммированной клеточной гибели, хотя и может отличаться от него механизмом.

1. Hayden M.R. An Immediate and Long-Term Complication of COVID-19 May Be Type 2 Diabetes Mellitus: The Central Role of β -Cell Dysfunction, Apoptosis and Exploration of Possible Mechanisms // *Cells*, 2020, vol. 9 (11), p. 2475.

АНАЛИЗ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЗУБНОГО ПОРОШКА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ С ПОМОЩЬЮ МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА
Analysis of the Anti-Inflammatory Properties of Tooth Powder in Diseases of the Oral Cavity Using a Micronucleus Test

Богачева Е.А., Ажищева М.В., Сыровец А.А., Лантушенко А.О.

Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, lantushenko@mail.ru

С каждым годом всё большую популярность среди потребителей косметических средств приобретает «зелёная» косметика, то есть косметика, созданная на основе натурального сырья [1]. Такая косметика должна обладать не только высокой эффективностью, но и быть максимально безопасной и гипоаллергенной. Одним из вариантов профилактики воспалительных заболеваний полости рта является использование зубных паст и порошков с противовоспалительными компонентами, причем особую актуальность приобретает растительное происхождение сырья.

В работе исследован зубной порошок, основу которого составляет бело-голубая глина, а также комплекс лекарственных трав: мята, корень айра, подорожник, ромашка, зверобой, крапива, репешок, мать-и-мачеха, чабрец, шалфей, эфирное масло (убтан для зубов «Мята»).

Исследования проводили с помощью микроядерного теста буккального эпителия. Данный метод является безопасным, не травматичным, простым и дешёвым и вместе с тем достаточно информативным, что обусловило его широкое применение в различных исследованиях [2,3]. Появление ядерных нарушений в пробе буккальных эпителиоцитов наблюдается не ранее чем через трое суток после воздействия с пиком около семи суток. В данной работе исследовалось состояние эпителиальных клеток ротовой полости у 10 доноров с выраженными воспалительными процессами, далее 5 испытуемым было предложено использовать убтан для зубов, а 5 человек продолжили чистить зубы обычной пастой. После двухнедельного эксперимента у участников были повторно собраны эпителиальные клетки.

При взятии материала делался соскоб с слизистой оболочки щеки выше линии смыкания зубов стерильным шпателем, который предварительно был обработан спиртом. Клетки помещались на предметное стекло и окрашивались красителем азури-эозином по Романовскому-Гимза в течение 15 минут. Далее образцы промывались дистиллированной водой и просушивались. У каждого донора анализировалось 1500 клеток, среди них несколько процентов составляли клетки с различными ядерными нарушениями. Клетки исследовались с помощью тринокулярного светового микроскопа «Микмед-6» («Ломо», Россия) в ЦКП «Молекулярная структура вещества» СевГУ, используемое увеличение $\times 400$. Анализировались следующие группы ядерных аномалий: цитогенетические, пролиферационные и деструкционные. При воспалительных заболеваниях наблюдались аномалии всех типов, однако доминировали по количеству клетки с деструкционными нарушениями (кариорексис и кариолизис), также наблюдалось существенное количество двухядерных клеток. У всех доноров, применявших зубной порошок, наблюдалось снижение общего количества нарушений, больше всего снизилось количество деструкционных аномалий. У испытуемых, пользовавшихся обычной зубной пастой, результаты не так однозначны: у некоторых наблюдалось снижение количества нарушений, но меньшее в процентном соотношении, у других – увеличение клеток с аномалиями. Следовательно, зубной порошок (продукт убтан для зубов "мята" фирмы «Ubtanica») желателен периодически использовать для профилактики воспалительных заболеваний ротовой полости.

1. Гаскарова О.В. Перспективы использования фитиновой кислоты как биологически-активной добавки растительного происхождения в косметических средствах // Проектная культура и качество жизни, 2018, № 10, с. 47-52.

2. Калаев В.Н., Нечаева М.С., Калаева Е.А. Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: монография. Воронежский государственный университет, Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016, 136 с.

3. Ильинских Н.Н., Ксенц А.С., Ильинских Е.Н. и др. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности. Томск: ТГПУ, 2011, 312 с.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ФИБРИЛЛ В СИСТЕМАХ С СУЛЬФАТИРОВАННЫМИ ПОЛИСАХАРИДАМИ**Alteration of Fibrils Structure in a Systems with Sulfated Polysaccharides****Богданова Л.Р.^{1,2}, Файзуллин Д.А.¹, Макшакова О.Н.^{1,2}, Седов И.А.^{2,3}**¹ Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ «Казанский научный центр РАН», г. Казань, РФ, chemli@mail.ru² Научно-технологический Университет «Сириус», г. Сочи, РФ³ Химический институт им. А.М. Бутлерова, Казанский федеральный университет, г. Казань, РФ

Дестабилизация структуры белков, приводящая к их агрегации, лежит в основе патогенеза целого спектра дегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона, паркинсонизм, гемодиализный амилоидоз, сахарный диабет II типа и др. Физиологические белки, присутствующие в организме человека в норме, под воздействием ряда факторов начинают агрегировать с образованием высокоупорядоченных фибриллярных структур, характеризующихся высокой долей межмолекулярных β -слоев. Эти патологические образования обладают токсичностью по отношению к здоровым клеткам организма. В настоящее время ведется активный поиск способов воздействия на кинетику фибриллообразования и перевода их в нетоксичные аморфные агрегаты.

Цель нашей работы заключалась в исследовании структурной устойчивости фибрилл в растворах каррагинанов, отличающихся распределением плотности заряда. В качестве модельного объекта были выбраны фибриллы, образованные лизоцимом яичного белка. Использовали ряд сульфатированных полисахаридов: κ , ι и λ -каррагинан, содержащие соответственно одну, две и три сульфатные группы на два остатка галактозы. Изменение структуры белка оценивали методом ИК-спектроскопии.

Показано образование водорастворимых и водонерастворимых комплексов между полисахаридами и фибриллами. В системах с полисахаридами наблюдается уменьшение доли межмолекулярных β -структур в пользу внутримолекулярных, что свидетельствует о разрушении фибрилл. Установлена зависимость между плотностью заряда цепи полисахарида и степенью изменения структуры белка.

Полученные результаты могут в дальнейшем использоваться в разработке стратегий лечения дегенеративных заболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-51012.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОВОЛНОВОЙ БЛИЖНЕПОЛЬНОЙ ТОМОГРАФИИ В БИМЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ
Possibilities of Applications of the Near-Field Microwave Tomography in the Biomedical Diagnostics**Бокерия Л.А.¹, Какучая Т.Т.¹, Куулар А.М.¹, Максимович Е.С.², Бадеев В.А.², Гайкович К.П.³**¹ Национальный исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева, г. Москва, РФ² Институт прикладной физики НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь³ Институт физики микроструктур РАН, г. Нижний Новгород, РФ, gaikovich@mail.ru

На протяжении ряда лет получили развитие методы ближнепольной подповерхностной СВЧ диагностики – томографии сплошных неоднородностей комплексной диэлектрической проницаемости, голографии (восстановления формы поверхности) сплошных объектов и профилирования (определения глубинного распределения) одномерно неоднородных сред [1-7] по данным многочастотных [1-4], импульсных [5,7], многоуровневых [2,6] и многоапертурных [6] измерений рассеянного неоднородностями сигнала. Специфика ближнепольных измерений состоит в использовании приемно-передающих систем с электрически малой (меньше длины волны) апертурой антенн, располагаемых на поверхности или на небольшой высоте над зондируемой средой. Поле излучения таких антенн состоит в основном из ближнепольных (эванесцентных) компонент, экспоненциально затухающих в ближней зоне. Такое резкое спадание зондирующего поля обеспечивает субволновую разрешающую способность (за релеевским пределом, ограничивающим разрешающую способность в дальней зоне).

Особенно эффективными эти методы могут быть для зондирования сред с сильным поглощением на высоких частотах, обеспечивающих требуемую разрешающую способность в дальней зоне (в частности, таких, как ткани тела), но не проникающих вглубь среды. В таких случаях ближнепольные измерения на более низких частотах способны обеспечить сочетание высокого разрешения с необходимой глубиной проникновения. В этом случае глубина проникновения определяется как частотой, так и размером апертуры используемых антенн. Например, для зондирования кожи применялись резонансные СВЧ датчики на основе цилиндрических конденсаторов, в которых глубина проникновения поля в среду (глубина зондирования) регулировалась зазором между внешней и внутренней обкладками конденсатора [6]. При варьировании зазора в пределах от 0,25 мм до 2 мм глубина зондирования изменялась от 0,1 мм до 1 мм.

В статье [7] был развит метод динамической СВЧ томографии вариаций глубинного распределения относительного воздухоносного содержания и кровенаполнения легких в процессах дыхания и сердечной деятельности по данным импульсных измерений, реализованный в эксперименте с использованием bow-tie антенн с длиной плеч 3,8 см и шириной 5,4 см и широкополосного импульсного сигнала с центральной частотой спектра 300 МГц и глубиной зондирования до 10 см [7]. В докладе рассматриваются результаты разработки этого метода: алгоритмы решения нелинейной некорректной обратной задачи восстановления глубинных профилей этих параметров в легких под зондирующей системой, основанные на методе двойственной регуляризации [4], а также задачи восстановления структуры покрывающих легкие тканей; обобщения метода для трехмерной задачи; результаты профилирования динамики воздухонаполнения и кровесодержания легких; результаты измерений со смещением по поверхности грудной клетки, включая измерения с новыми, уменьшенными до 3 см, антеннами. Результаты могут служить основой новых методов неинвазивной медицинской диагностики легких (отек, гидроторакс, пневмоторакс, ателектаз, диагностика патологий и осложнений COVID-19 и др).

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 20-52-00030 и соответствующего белорусского проекта T20P-244.

1. Gaikovich K.P. Subsurface near-field scanning tomography // Physical Review Letters, 2007, vol. 98, no.18, p. 183902.
2. Gaikovich K.P., Gaikovich P.K. Inverse problem of near-field scattering in multilayer media // Inverse Problems, 2010, vol. 26, no. 12, p. 125013.
3. Gaikovich K.P., Gaikovich P.K., Maksimovitch Ye.S., Badeev V.A. Pseudopulse near-field subsurface tomography // Physical Review Letters, 2012, vol. 108, no. 16, p.163902.
4. Gaikovich K.P., Gaikovich P.K., Maksimovitch Ye.S. et al. Dual regularization in non-linear inverse scattering problems // Inverse Problems in Science and Engineering, 2016, vol. 24, no. 7, pp. 1215-1239.
5. Gaikovich K.P., Maksimovitch Ye.S., Sumin M.I. Inverse scattering problems of near-field subsurface pulse diagnostics // Inverse Problems in Science and Engineering, 2018, vol. 26, no. 11, pp. 1590-1611.
6. Gaikovich K.P., Smirnov A.I., Yanin D.V. Near-Field Resonance Microwave Tomography and Holography // Radiophysics and Quantum Electronics, 2018, vol. 60, no. 9, pp. 733-749.
7. Бокерия Л.А., Какучая Т.Т., Максимович Е.С. и др. Ближнепольное импульсное СВЧ зондирование динамики подповерхностной структуры тканей тела при дыхании и сердечной деятельности // Журнал радиоэлектроники [электронный журнал], 2020, № 8. doi: 10.30898/1684-1719.2020.8.5

АДРЕСНАЯ ТЕРАПИЯ НА ФОНЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ КАК НОВЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ ОПУХОЛЕЙ ЦНС

Targeted Therapy Against the Background of Proton Irradiation as a New Approach to the Treatment of Central Nervous System Tumors

Бурдаков В.С.^{1,2}, Волницкий А.В.^{1,2}, Гараева Л.А.^{1,2,3}, Куус Е.А.^{3,4} Лебедев Д.В.^{1,2}, Верлов Н.А.¹,
Конева А.Л.^{1,2,3}, Штам Т.А.^{1,2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина, РФ

² НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, РФ

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, г. Санкт-Петербург, РФ

⁴ Центр протонной терапии МИБС, г. Санкт-Петербург, РФ

На сегодняшний день протонная терапия считается самым современным методом лучевой терапии при онкологии и имеет существенные преимущества в сравнении с традиционной ЛТ. Это обусловлено различием физических свойств протонов и фотонов- глубиной, где протон отдаст максимум своей энергии, а следовательно, внесет максимальное повреждение ткани, можно управлять с точностью до миллиметра, что позволяет воздействовать на опухоль практически не затрагивая здоровую ткань.

Глиомы являются наиболее опасными, высоко инвазивными опухолями ЦНС, которые плохо поддаются стандартному клиническому лечению и приводят к быстрой гибели пациентов. Облучение протонами может устранить уже сформировавшиеся очаги глиомы [1], однако распространившиеся в окружающие ткани «спящие» раковые клетки сохраняются и дадут новые очаги [2]. Кроме того, опухолевые клетки, не попавшие в пик Брэгга и получившие дозу меньше расчетной, могут стать еще агрессивнее. Мы предположили, что такие клетки можно устранить с помощью специально подобранных таргетных препаратов уже после облучения.

Клетки мультиформной глиобластомы облучали дозами от 0.5 до 6Гр на протонном синхротроне СЦ-1000 (НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ) и медицинских протонах в МИБС и рассеивали на 96-луночный планшет. В качестве контроля использовали необлученные клетки. Через сутки к клеткам были добавлены разные концентрации ингибитора гистоновых деацетилаз- бутирата натрия, и GANT61 – специфического ингибитора транскрипционных факторов gli, участвующих в развитии злокачественных глиом [3]. На 5-е и 7-е сутки после облучения выживаемость клеток оценивали с помощью MTS-теста. Было показано, что облучение

малыми дозами радиации значительно усилило действие этих ингибиторов даже в выбранных нами наиболее низких концентрациях, недостаточных для массовой гибели опухолевых клеток при их использовании в монорежиме. Таким образом, сочетание протонной и адресной терапии может стать основой для эффективного лечения злокачественных глиом.

Работа выполнена при поддержке НИЦ «Курчатовский институт» (приказ № 1363).

1. Mizumoto M., Yamamoto T., Takano S. et al. Long-term survival after treatment of glioblastoma multiform with hyperfractionated concomitant boost proton beam therapy // *Pract. Radiat. Oncol.*, 2015, vol. 5 (1), pp. e9-16.
2. Gulaia V., Kumeiko V., Shved N. et al. Molecular Mechanisms Governing the Stem Cell's Fate in Brain Cancer: Factors of Stemness and Quiescence // *Front Cell Neurosci.*, 2018, vol. 12, p. 388.
3. Volnitskiy A., Shtam T., Burdakov V. et al. Abnormal activity of transcription factors gli in high-grade gliomas // *PLoS One*, 2019, vol. 14 (2), p. e0211980.

ВЫСОКОЧАСТОТНАЯ СОНОГРАФИЯ СЕРДЕЧНО СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ В РАННЕМ РАЗВИТИИ НИЗШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

High Frequency Sonography of the Cardiovascular System in the Early Development of Lower Vertebrates

Бурлаков А.Б., Титов С.А., Зыкова Л.А.

Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, г. Москва, РФ, burlakovao@mail.ru

В настоящее время эмбрионы рыб являются популярным модельным объектом для исследований в области биологии развития, генетики, экологии, медицины. Среди неинвазивных методов наблюдения различных структур зародыша, его роста, деления клеток и движения крови ультразвуковые методы являются весьма перспективными. Существующие в настоящее время установки эффективны для исследования сердечно сосудистой системы и измерения параметров кровотока взрослых особей рыб [1]. Вместе с тем, исследование сердца эмбриона или личинки рыбы, имеющего характерные размеры 0,10–0,15 мм с помощью подобных приборов представляется затруднительным вследствие недостаточно высокого разрешения. В данной работе разработана методика и проведено сонографическое исследование эмбрионов и личинок рыбы вьюна *Misgurnus fossilis* с помощью сканирующего акустического микроскопа [2]. Личинку погружали в воду, служащей также в качестве иммерсионной жидкости. Акустический объектив, состоящий из ультразвукового преобразователя и линзы, генерировал зондирующие импульсные волны и принимал отраженные от объекта эхо-сигналы. Для получения ультразвукового изображения акустический объектив механически перемещался в поперечных направлениях. Пространственное разрешение прибора составляло примерно 20 мкм. Для обнаружения движения органов принимаемый сигнал микроскопа записывался для каждого положения преобразователя в зависимости от времени.

На рисунке 1 представлен пример ультразвуковых данных, измеренных для области желудочка сердца в течение 2,5 с. В сигнале выделяются отклики А и В, образованные отражением ультразвуковых волн от стенок сердца. Наблюдается очевидная периодичность двигательной активности стенок с периодом примерно 0,8 с. В пространстве между стенками имеют место сигналы, отраженные от движущихся элементов крови. Тонкая структура этих сигналов показывает разнородность пространственного распределения элементов крови. Характер движения крови изменяется в зависимости от функционального периода в сердечном ритме, что позволяет выделить фазы систолы “S” и диастолы “D”.

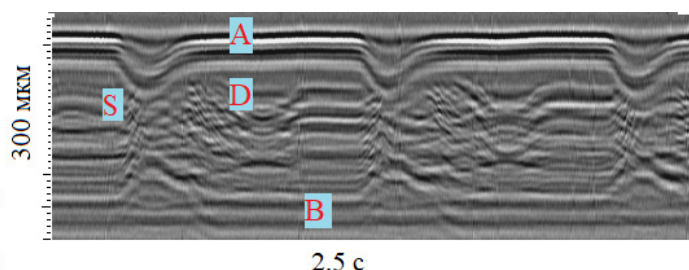


Рисунок 1. Ультразвуковой отклик личинки сердца вьюна *Misgurnus fossilis*

В докладе подробно рассматриваются особенности функционирования различных элементов сердечно сосудистой системы личинок вьюна *Misgurnus fossilis* с помощью высокочастотного сонографического модуля. Обсуждается возможность использования данного метода для диагностики функционального состояния сердечно сосудистой системы на разных этапах развития вьюна.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Государственного задания № 0069-2019-0009.

1. Huang C.C., Su T.H., Shih C.C. High-resolution tissue Doppler imaging of the zebrafish heart during its regeneration // *Zebrafish*, 2015, vol. 12, no 1, pp. 48-57.
2. Burlakov A.B., Titov S.A., Bogachenkov A.N. Ultrasonic monitoring of early development of lower vertebrate embryos // *J. of Physics: Conf. Series.*, 2020, vol. 1679.

ОЛИГОМЕРЫ УРОМОДУЛИНА В РАСТВОРАХ РАЗЛИЧНОЙ ИОННОЙ СИЛЫ И pH Oligomers of Uromodulin in Solutions of Different Ionic Strength and pH

Верлов Н.А., Ланда С.Б., Эмануэль В.Л.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,
г. Гатчина, РФ, verlov_na@npi.nrcki.ru

Уромодулин – основной белок мочи – экспрессируется исключительно клетками эпителия, выстилающими полость канальца толстого восходящего сегмента петли Генле [1]. В просвете канальцев, за счёт ZP-домена, ответственного за полимеризацию, уромодулин образует высокомолекулярные нити, которые иногда могут быть обнаружены в осадке мочи в виде гиалиновых цилиндров. К основным функциям уромодулина можно отнести: регулирование ионного транспорта в толстом восходящем сегменте петли Генле, иммуномодулирующий эффект, защита от инфекций мочевыводящих путей, ингибирование процессов кристаллообразования в почках. За счёт полимеризации как в первичной, так и во вторичной моче уромодулин представлен исключительно в виде олигомеров, анализ фракционного состава мочи в норме однозначно указывает на то, что основной формой является форма с массой 7МДа. При оксалатном уролитиазе помимо UM(7) наблюдается появление олигомеров массой 28 МДа (UM(28)). Ранее авторами исследования было показано, что UM(7) обладает выраженными электроотрицательными свойствами (величина дзета-потенциала $-23,7 \pm 3,2$ мВ), тогда как UM(28) характеризуется существенно меньшим поверхностным зарядом $-3,5 \pm 3,1$ мВ. Можно предположить, что стабилизация коллоида мочи в норме, в физиологически адекватном диапазоне концентраций одновалентных ионов, происходит за счет связывания избыточных ионов вблизи поверхности электроотрицательных молекул UM(7). При увеличении концентрации ионов, когда электроотрицательных свойств заряженной молекулы UM(7) становится недостаточно для ингибирования процесса кристаллогенеза в моче, наблюдается образование микрокристаллитов и их последующий рост в конкременты более крупных размеров.

Для определения влияния pH и концентрации одновалентных катионов на олигомерные формы UM готовили универсальный буфер из смеси уксусной фосфорной и борной кислот в эквимолярном соотношении по 40 мМ каждая. До требуемого pH смесь доводили 200 мМ NaOH. В выбранном диапазоне pH ионная сила (IF) буферного раствора колебалась от 123 мМ для pH – 2,56 до 136 мМ для pH – 9,91. Для получения необходимой ионной силы раствор буфера либо разбавляли дистиллированной водой до нужной концентрации, либо доводили до нужной концентрации 1М или 3М раствором NaCl. Аликвоты белка, выделенного и очищенного, как описано выше, разбавлялись буфером в соотношении 1:1000 и помещались в кювету лазерного корреляционного спектрометра для определения фракционного состава. Для формы UM(7) ($R_h = 100$ нм) строили кривые зависимости вклада в рассеяние от pH раствора для каждой ионной силы отдельно. Для выяснения различий в действии одновалентных катионов буферные растворы готовили также, только NaOH заменяли на KOH или водный раствор аммиака, а NaCl на KCl или NH₄Cl.

Исходное количество олигомерной формы UM(7) у здоровых людей всегда близко к 100 %, при титровании кривая имеет вид типичной «пороговой кривой» с точкой перегиба при концентрации 250 мМ для натрия и аммония и 150 мМ для калия. До достижения пороговой величины ионной силы при увеличении концентрации одновалентных ионов образование формы UM(28) идет медленно, а при достижении порога концентрации резко ускоряется. Уровень в 10% достигается при концентрации равной 580 мМ для натрия, 545 мМ для аммония и 450 мМ для калия. Для натрия точка перегиба близка к физиологическому верхнему референтному интервалу концентрации этого катиона в моче (220 мМ). Для калия точка перегиба наступает при 150 мМ и еще больший запас имеется по аммонiu.

Переход из формы UM(7) в форму UM(28) происходит и при увеличении кислотности раствора. Кривые зависимости количества формы UM(7) от pH так же, как и в случае с одновалентными катионами, носят ярко выраженный пороговый характер. Особенно это заметно, когда концентрация соли в растворе не превышает физиологического диапазона (250 мМ Na). В этом случае резкое уменьшение содержания формы UM(7) происходит при pH менее 4, то есть вблизи изоэлектрической точки нормального UM, при этом уровень 10% достигается при pH 3,5–4,0. При увеличении концентрации соли выше физиологического предела точка перегиба смещается сначала в область pH = 6, а затем и в область щелочных pH: при концентрации Na 450 мМ точка перегиба находится при pH = 8, а при 600 мМ NaCl кривая становится беспороговой. При этом 10ти% предел при концентрации соли 450 мМ достигается при pH = 4,5, а при 600мМ NaCl при pH = 7.

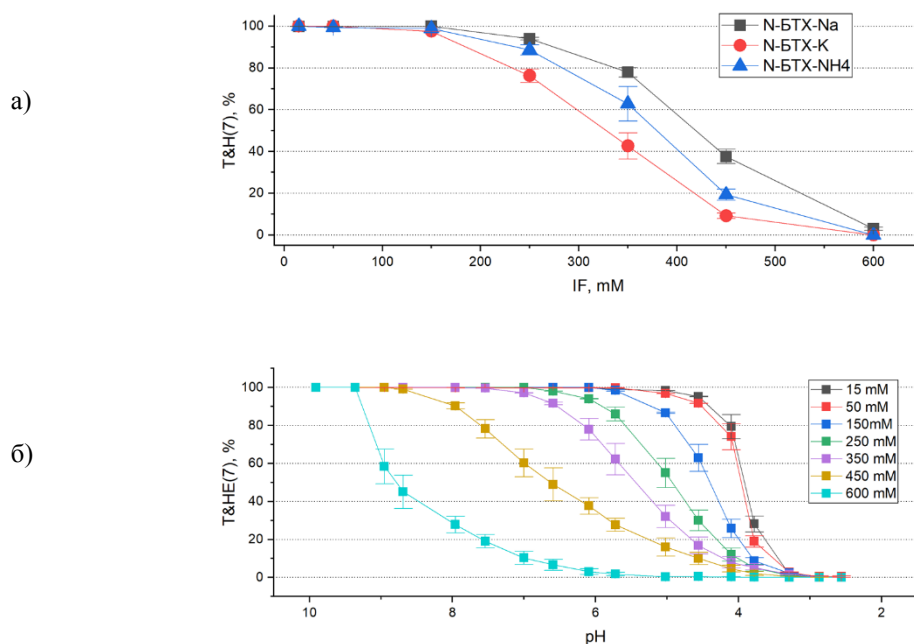


Рисунок 1. Зависимость вклада в рассеяние UM(7) от ионной силы растворителя (при титровании NaOH, KOH и водным раствором NH₄) (а) и pH (в т.ч. при титровании при титровании NaOH) (б).

Исходя из полученных зависимостей, можно сделать вывод, что превышение содержания одновалентных ионов сверх порогового значения приводит к трансформации UM(7) в UM(28) в тестовом растворе. Чувствительность раствора белка к концентрации ионов Na⁺, K⁺ и NH₄⁺ также различна, так перегиб для K⁺ наблюдается при 150 мМ, а для Na⁺ - 250 мМ. Зависимость содержания UM(7) от величины pH раствора также имеет пороговый характер (обратная шкала выбрана для того, чтобы показать переход от 100% UM(7) до 0%). Можно отметить, что pH и ионная сила раствора обладают аддитивным эффектом в части инициации процесса трансформации UM(7) в UM(28). Полученные зависимости позволяют сделать вывод о наличии процессов агрегации UM(7) и образования UM(28) внутри физиологически адекватного (для мочи в норме) диапазона параметров растворителя.

1. Devuyt O., Olinger E., Rampoldi L. Uromodulin: from physiology to rare and complex kidney disorders // Nat. Rev. Nephrol., 2017, vol. 13, no. 9, pp. 525-544.

ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СУБСТРАТЫ РАЗЛИЧНЫХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Influence of a Pulsed Magnetic Field on Substrates of Various Enzymatic Reactions

Винник Д.А.¹, Печко А.Е.¹, Роденко Н.А.^{1,2}, Васильева Т.И.¹, Глуценков В.А.^{1,2}

¹ Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, г. Самара, РФ, t.rodenko@mail.ru

² Самарский федеральный исследовательский центр РАН, г. Самара, РФ

Импульсные магнитные поля (ИМП) нашли широкое применение в различных областях современных технологий. Множество работ показывают о действии ИМП на биологические и химические реакции [1,2]. Установлено усиление антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли, обработанной ИМП высокой напряженности [3]. Выдвинута гипотеза повышения антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли под воздействием ИМП, связанная с изменением конформации молекулы бензилпенициллина и увеличением ее сродства к активным центрам соответствующих ферментов. Обработка ИМП других лекарственных препаратов с целью увеличения биологической активности может расширить применение воздействия импульсных магнитных полей.

Цель настоящего исследования – изучение влияния импульсного магнитного поля на активность цефтриаксона и ацетилхолина.

В экспериментах использовали цефтриаксон в порошкообразном виде (1 г) и ацетилхолин хлорид (Sigma-Aldrich, Германия), которые обрабатывались ИМП с параметрами напряженности от $0,09 \cdot 10^6$ А/м до $0,82 \cdot 10^6$ А/м с частотой $f = 30-70$ кГц при количестве импульсов $n=1$. Оценка антибактериальной активности цефтриаксона

осуществлялась методом диффузии агар с применением бумажных дисков [4], а об изменении активности обработанного ИМП ацетилхолина судили по методике определения активности ацетилхолинэстеразы, представленной в работе [5]. В качестве объекта исследования при определении антибактериальной активности цефтриаксона служила кишечная палочка *Escherichia coli*. Обработка полученных данных при изучении биологической активности и определения активности ацетилхолинэстеразы производилась в программе Microsoft Excel с помощью t-критерия Стьюдента. Различия между средними величинами считали достоверными при $p < 0,05$.

Выводы:

- 1) Антибактериальная активность цефтриаксона в отношении бактерий *E. coli* при воздействии ИМП с напряженностями $0,09 \cdot 10^6$ А/м; $0,50 \cdot 10^6$ А/м; $0,82 \cdot 10^6$ А/м достоверно уменьшается на 10%, 16% и 29% соответственно. Антибактериальная активность цефтриаксона в отношении бактерий *E. coli* при воздействии с напряженностями $0,16 \cdot 10^6$ А/м; $0,27 \cdot 10^6$ А/м; $0,40 \cdot 10^6$ А/м достоверно увеличивается на 4% и 5% соответственно.
- 2) Воздействие на ацетилхолин хлорид ИМП с напряженностями $0,09 \cdot 10^6$ А/м и $0,82 \cdot 10^6$ А/м способствовало увеличению активности фермента ацетилхолинэстеразы на более чем 60% по отношению к контролю; при обработке субстрата ИМП с напряженностью $0,50 \cdot 10^6$ А/м изменений в активности ацетилхолинэстеразы по отношению к контролю не наблюдалось.

1. Постников В.В., Камалова Н.С., Кальченко С.В. О возможном влиянии импульсного магнитного поля на образование ковалентных связей между макромолекулами целлюлозы в модифицированной древесине // Физика и химия обработки материалов, 2009, № 6, с. 91-93.

2. Роденко Н.А., Шакирзянова Р.А. Изменение вязкости нефти под действием импульсного магнитного поля // Тезисы молодежной научной конференции, посвященной 20-летию со дня начала эксплуатации международной космической станции, 2018, № 1, с. 165-166.

3. Глушечков В.А., Васильева Т.И., Пурьгин П.П. и др. Изменение антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли под воздействием импульсного магнитного поля высокой напряженности // Биофизика, 2019, т. 64, № 2, с. 296-306.

4. Кленова Н.А. Лабораторный практикум по микробиологии: учеб. пособие. Самара: Самарский университет, 2012, 102 с.

5. Филлипова А.М., Воробьева О.В., Аванесян С.С. Биосенсорная тест-система на основе иммобилизованного фермента ацетилхолинэстеразы для определения карбофоса // Русский медицинский журнал, 1997, т. 5, № 21, с. 1367-1381.

ИЗМЕНЕНИЕ СПОСОБНОСТИ ЦИТОХРОМА С К ВОССТАНОВЛЕНИЮ ПОСЛЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТОЙ

Changing the Ability of Cytochrome C to Recover After Interaction with Phosphatidic Acid

Волков В.В., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Минздрава России, г. Москва, РФ, vitaylo2013@mail.ru

На сегодняшний день хорошо изучена роль кардиолипина в инициации структурных изменений в цитохроме с, которые в свою очередь приводят к изменению его пероксидазной активности и развитию апоптотических процессов. Одним из таких структурных изменений, является деформация и разрыв шестой координационной связи железа гема с метионином 80. В результате данного изменения увеличивается способность малых лигандов, таких как пероксид водорода, взаимодействовать с железом, что и приводит к появлению пероксидазной активности гема. На спектре поглощения цитохрома С такое структурное изменение проявляется в виде исчезновения полосы 695 нм.

Однако, по результатам наших исследований было замечено, что при взаимодействии с различными фосфолипидами, также резко уменьшается способность железа гема к восстановлению, что может играть значимую роль изменении интенсивности свободнорадикальных процессов, протекающих при развитии апоптоза [1]. На спектре поглощения цитохрома с такое изменение в способности к восстановлению можно оценить по росту значения оптической плотности полосы 550 нм. Причем конформационные изменения, которые приводят к изменению способности цитохрома с к восстановлению, инициируются не только кардиолипином. В нашей работе мы хотели показать, что сравнимо или даже более выражено с этой задачей справляется фосфатидная кислота.

Выбранная экспериментальная модель была представлена фосфолипидными липосомами, содержащими ди-олеил-фосфатидилхолин (DOPC), тетра-олеил-кардиолипин (TOCL) или ди-олеил-фосфатидную кислоту (DOPA). Доля анионных фосфолипидов в липосомах составляла 20%. При титровании цитохрома С возрастающими концентрациями аскорбиновой кислоты, происходит рост полосы 550 нм.

По оценке зависимости нормированной оптической плотности полосы 550 нм от концентрации аскорбата видно, что способность к восстановлению у цитохрома с в присутствии DOPC – содержащих липосом не отличается, однако в присутствии липосом содержащих 20% TOCL или DOPA резко уменьшается. Уменьшение происходит примерно до 60%, при добавке аскорбата в концентрации 300мкМ при количестве цитохрома с 10мкМ. Количественное соотношение фосфолипидов к цитохрому с во всех экспериментах было равно 1/20.

Такой результат позволяет сделать два вывода:

1. подтверждает способность цитохрома с намного более выразительно взаимодействовать не только с TOCL, но и с DOPA-содержащими липосомами
2. а также позволяет оценить влияние липосом содержащих фосфатидную кислоту на структурные изменения в области железа гема цитохрома с. Такое изменение выразительно изменяет способность цитохрома с к восстановлению. При этом регуляция способности к восстановлению может быть связана с развитием ряда свободнорадикальных процессов, приводящих клетку к апоптозу.

1. Kagan V.E. et al. Redox phospholipidomics of enzymatically generated oxygenated phospholipids as specific signals of programmed cell death // Free Radic. Biol. Med., 2020, vol. 147, pp. 231-241.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ КРОВИ КАК АЛЬТЕРНАТИВА МЕТОДОВ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Biochemical Methods of Blood Inflammation Markers as an Alternative to Computer Tomography Methods for Determining the Degree of Pulmonary Tissue Damage in New Coronavirus Infection

Гайдабура Е.А., Золотавина М.Л., Братова А.В.

Кубанский Государственный университет, ГБУЗ «НИИ – Краевая клиническая больница № 1 им. Очаповского»
г. Краснодар, РФ, alena.gajdabura@mail.ru

В декабре 2019 в КНР был зарегистрирован новый штамм коронавируса – SARS-COV-2, и уже в феврале 2020 года мир охватила волна пандемии COVID-19. Вирус оказался способным проникать в клетки организма связываясь с клеточными рецепторами – ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ-2) вызывая развитие двухсторонней пневмонии и системное воспаление, в нередких случаях, приводящих к полиорганной недостаточности и сепсису что, по данным ВОЗ, в 6,82 % случаев заканчивалось летальным исходом.

Для контроля процесса поражения легочной ткани при COVID-19 обычно используют методы компьютерной томографии, которая позволяет оценить процент задействованных в патологическом процессе участков легких. Однако такой метод исследования является весьма дорогостоящим и при частом применении, которое важно при оценке тяжести больного с новой коронавирусной инфекцией, оказывает негативное влияние на организм человека. В связи с этим появилась необходимость поиска альтернативных методов определения процента поражения легких для прогнозирования течения заболевания. В связи с актуальностью данной темы целью нашего исследования стало определение биохимических методов маркеров воспаления крови как альтернативы методов компьютерной томографии для выявления степени поражения легочной ткани при новой коронавирусной инфекции.

Для достижения цели работы нами были использованы оптические и иммунологические методы, основанные на взаимодействии исследуемого показателя с мобилизованными специфическими антителами, для определения тяжести протекания заболевания. Использовались оригинальные реагенты иммунохимического анализатора Architect 2000, Advia 1800.

В результате использования спектрофотометрических методов определения биохимических показателей в сыворотке крови больных COVID-19 была определена концентрация ферритина (повышалась в 3,78–6,22 раз по сравнению с нормой), уровень СРБ (повышался в 3,8–15,2 раз) и уровень лактата (повышался в 1,3–2,6 раз), изменение которых коррелировало с прогрессированием поражения лёгочной ткани. Контингент исследования был разделен на группы мужчин (М) и женщин (Ж), а также три возрастные группы: М1/Ж1 (от 18 до 44 лет), М2/Ж2 (от 45 до 64 лет) и М3/Ж3 (от 65 до 74 лет), что позволило оценить относительную диагностическую значимость выбранных тестов. Зависимость использования оптических методов (спектрофотометрия) от степени поражения легких при COVID-19 (метод компьютерной томографии) была оценена с помощью корреляционного анализа. В группе мужчин (М1) коэффициент корреляции между концентрацией ферритина в сыворотке крови и КТ составил 0,96, М2 – 0,96, а М3 – 0,97, что в соответствии с критериями оценивания по шкале Чеддока означало высокую связь и про слеживающуюся зависимость между результатами оптического метода и степенью поражения лёгких по данным КТ. Для оценки возможности использования иммунологических методов при исследовании COVID-19 определялась концентрация ИЛ-6 (повышалась в 126–981 раз). В группе женщин (Ж1) коэффициент корреляции между концентрацией ИЛ-6 в сыворотке крови и КТ во всех возрастных группах составлял 0,99.

Исходя из полученных зависимостей, можно сделать вывод, что оптические и иммунологические методы исследования являются точными, не оказывают влияние на организм человека, и при этом позволяют оценить тяжесть протекания новой коронавирусной инфекции, как альтернатива метода КТ легких.

1. Войтенков В.Б., Марченко Н.В., Скрипниченко Н.В. и др. Значение инструментальных методов в диагностике пневмонии при коронавирусной инфекции // Педиатрия, 2020, № 1, с. 20-25.
2. Котляров П.М., Паньшин Г.А., Гваришвили А.А. и др. Компьютерная томография в динамическом мониторинге вирусной пневмонии, ассоциированной с COVID-19 (клиническое наблюдение) // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии, 2020, т. 20, № 4, с. 90-105.
3. Иванова В.В., Говорова Л.В., Тихомирова О.В. Особенности биохимических изменений в клетках и плазме крови при COVID-19 // Педиатрия, 2020, № 9, с. 38-43.

ГЕНОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ОЗОНА НА КЛЕТКИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ozone Genotoxic Effect on Breast Adenocarcinoma Cells

Гапеев А.Б.^{1,2}, Щербатюк Т.Г.^{2,3,4}, Балакин Г.Ю.³, Синельникова В.А.³, Рысцов Г. К.^{2,5}, Земскова М.Ю.^{2,5}

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино Московской области, РФ, *a_b_g@mail.ru*

² Московский государственный областной университет, г. Мытищи Московской области, РФ

³ Пущинский государственный естественно-научный институт, г. Пущино Московской области, РФ

⁴ Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, РФ

⁵ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, г. Пущино Московской области, РФ

Несмотря на существенные достижения в области онкологии, проблема лечения злокачественных новообразований по-прежнему актуальна и требует разработок новых стратегий воздействия. Ранее было показано, что озон оказывает цитотоксическое действие на опухолевые клетки саркомы-45 [1], потенцирует действие гамма-облучения [2], усиливает действие доксорубина и 5-фторурацила [3], повышает эффективность фотодинамической терапии [4]. Однако вопрос дозозависимого действия озона остается открытым.

В исследованиях использовали лейкоциты крови взрослых самцов беспородных белых мышей Kv:SHK (возраст 2 месяца, масса тела 22-25 г), приобретенных в питомнике животных (РАМН, Крюково, Московская область, Россия) и культуру клеток аденокарциномы молочной железы человека MDA-MB-241. Для получения озона использовали аппарат терапевтический низких и средних концентраций озона АОТ-НСК-01-«С(А-16)», разработанный Российским Федеральным ядерным центром ВНИИ экспериментальной физики. Клетки подвергались воздействию озона посредством погружения в озонированный фосфатный буфер с последующей инкубацией в течение 10 мин при 37°C. Повреждение ДНК оценивали методом «ДНК-комет» с помощью аппаратно-программного комплекса "Комет Эксперт" (ООО "Ген Эксперт", г. Пущино Московской обл.).

В результате проведенных экспериментов получили линейную зависимость повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши от концентрации озона в диапазоне 0-0,4 мг/л в озono-кислородной смеси, при больших концентрациях зависимости не наблюдалось. Обнаружили, что 1) уровень повреждений ДНК в опухолевых клетках линейно зависит от концентрации озона в озono-кислородной смеси; 2) опухолевые клетки значительно (в 2 раза) более чувствительны к озону, чем лейкоциты периферической крови мыши (рис. 1).

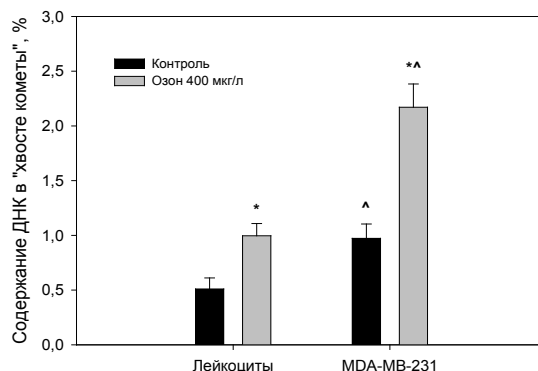


Рисунок 1. Уровни повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши и опухолевых клетках при воздействии озона

* $p < 0.001$ относительно уровня повреждений в контроле по t -критерию Стьюдента, $n \geq 12$.

^ $p < 0.01$ относительно уровня повреждений ДНК в лейкоцитах по t -критерию Стьюдента, $n \geq 12$.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-02-00667).

1. Патент РФ на изобретение №2137481/24.12.1996. Щербатюк Т.Г., Конторщикова К.Н. Способ лечения злокачественных новообразований в эксперименте. Доступно по: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_38133188_16489846.pdf.
2. Щербатюк Т.Г. Применение озона в медицине, проблема и перспективы // Физиологичний журнал, 2008, т. 54, № 2, с. 41-48.
3. Патент РФ на изобретение №2361590/24.05.2007. Бюл. №20. Щербатюк Т.Г., Селемир В.Д., Клинцева Е.С. Способ повышения противоопухолевого эффекта химиотерапии. Доступно по: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_37687829_39051644.pdf.
4. Щербатюк Т.Г., Жукова (Плеханова) Е.С., Никитина Ю.В., Гапеев А.Б. Окислительная модификация белков в тканях крыс при опухолевом росте в условиях озono-фотодинамического воздействия // Биофизика, 2020, т. 65, № 2, с. 367-375. doi: 10.31857/S0006302920020209

НЕИНВАЗИВНАЯ ОЦЕНКА ВРЕМЕНИ ПРОХОЖДЕНИЯ ПУЛЬСОВОЙ ВОЛНЫ У ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФАЗОВОГО И МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДОВ Non-invasive Assessment of the Pulse Transit Time in Human Using Phase and Morphometric Methods

Гарамян Б.Г.¹, Гриневич А.А.¹, Хадарцев А.А.², Чемерис Н.К.¹

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, garamjan13@gmail.com

² Тульский государственный университет, г. Тула, РФ

Время прохождения пульсовой волны необходимо для определения скорости распространения пульсовой волны по сосудистому руслу. Скорость распространения пульсовой волны – один из неинвазивных критериев оценки функционального состояния сосудистого русла [1].

Целью данной работы является оценка адекватности предложенного авторами фазового метода расчета времени прохождения пульсовой волны.

В исследование были включены 20 здоровых добровольцев (10 женщин и 10 мужчин). Для регистрации ЭКГ использовался программно-аппаратный комплекс «ВНС-Микро» (Россия). Регистрация производилась во втором стандартном отведении с частотой дискретизации 2 кГц. Фотоплетизмографические сигналы регистрировали с использованием фотоплетизмографа «Ангиоскан» (Россия) с частотой дискретизации 1 кГц. Авторы разработали два оригинальных алгоритма. Первый на основе морфометрического контурного анализа (морфометрический метод) позволяет автоматически обрабатывать ЭКГ и фотоплетизмографические сигналы и формирует числовой дискретный массив времен задержки. Второй метод, использующий вейвлет-преобразование и кросс-спектральный анализ (фазовый метод), вычисляет разность фаз между спектральными компонентами ЭКГ и фотоплетизмографических сигналов, а затем время прохождения пульсовой волны на заданной спектральной частоте.

Сравнительный анализ не выявил достоверных различий между временами прохождения пульсовой волны, рассчитанными двумя методами: морфометрическим и фазовым [2]. Однако вариабельность значений времен прохождения пульсовой волны, определяемых фазовым методом, меньше, чем при использовании общепринятого морфометрического метода. Кроме того, была обнаружена высокая степень корреляции между временем прохождения пульсовой волны в правой и левой руке, независимо от используемого метода расчета.

Таблица 1. Средние значения и стандартные отклонения времени прохождения пульсовой волны, вычисленных фазовым методом (Δt_{ph}) и морфометрически (Δt_p) для левой и правой руки

	Левая рука	Правая рука
$\Delta t_{ph}, c$	0,172±0,08	0,167±0,08
$\Delta t_p, c$	0,233±0,13	0,231±0,12

Из таблицы 1 видно, что время прохождения пульсовой волны, полученное фазовым методом, имеет меньшее среднее значение и меньший разброс, чем время прохождения пульсовой волны, полученное морфометрическим методом.

Разработанный фазовый метод снижает сложность и повышает надежность определения времени прохождения пульсовой волны по сравнению с морфометрическим методом за счет частичной замены сложных и менее надежных алгоритмических процедур строгим и однозначным математическим формализмом.

Фазовый метод оценки времени прохождения пульсовой волны может найти широкое применение в научных физиологических исследованиях гемодинамики, спортивной и профилактической медицине.

1. Gesche H., Grosskurth D., Kuchler G., Patzak A. Continuous blood pressure measurement by using the pulse transit time: comparison to a cuffbased method // Eur. J. Appl. Physiol., 2012, vol. 112, pp. 309-315.

2. Garamyan B.G., Grinevich A.A., Khadartsev A.A., Chemeris N.K. Comparative analysis of contour and phase approaches to estimating the time of passage of the pulse wave // Journal of New Medical Technologies, 2020.

ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 ДЛЯ ПЕРФУЗИИ ИЗОЛИРОВАННОЙ ПОЧКИ КРЫСЫ

Application of Peroxiredoxin 6 for Perfusion of Isolated Rat Kidney

Гордеева А.Е., Новоселов В.И.

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, gordeeva1310@yandex.ru

Цель работы – исследование роли пероксиредоксина 6 (Prx6) как средства для сохранения морфофункционального состояния ишемизированной изолированной почки при перфузии. В работе была использована модель изолированной перфузируемой почки крысы [1]. Срок ишемии составил 5 и 20 минут, перфузия – 50 минут. Для оценки эффективности пероксиредоксина 6 при разной продолжительности ишемии использовали общепринятые критерии функционирования почки и гистологические методы. Рекомбинантный Prx6 был получен в лаборатории механизмов рецепции Института биофизики клетки РАН [2].

Было показано, что на 5-минутном сроке тепловой ишемии экзогенный Prx6 сохраняет морфофункциональное состояние изолированной почки при перфузии. В этот период основные критерии функционирования изолированной почки достигают допустимых значений, почечная паренхима без выраженных повреждений. К концу перфузии отмечается увеличение скорости потока мочи (СПМ), скорости клубочковой фильтрации (СКФ), фракционной реабсорбции глюкозы (ФРГ), концентрации мочевины в моче (КММ) и доли первичной мочи (ДТМ) от 1,5 до 2 раза по сравнению с показателями в группе, где Prx6 не использовали. При 20-минутной ишемии изолированную почку можно признать нежизнеспособной по критериям функционирования и положительный эффект пероксиредоксина 6 нивелируется (табл.1). Отсутствие функционирования почки связано, вероятнее всего с тем, что принципиальное значение для выживаемости изолированного органа играет длительность ишемии. На фоне острого канальцевого некроза происходит спазм приносящих артериол клубочков, что может приводить к нарушению внутриорганного кровотока и развитию синдрома «no-reflow».

Таблица 1. Критерии функционирования в конце периода перфузии

Критерий		СПМ мкл/мин	СКФ мл/мин	ФРГ %	КММ мкмоль/10 мин	ДТМ %
Мин значения		>30	>0,5	>90		
Ишемия 5 мин	Без Prx 6	115±23	0,2±0,04	71±12	7±1,8	64±4,7
	Prx 6	178±28	0,4±0,05	94±1	13±1,7	45±1
Ишемия 20 мин	Без Prx 6	137±40	0,16±0,05	46±13	9,6±3	85±3,2
	Prx 6	146±41	0,16±0,04	44±13	9,6±1	91±2,3

Таким образом, применение рекомбинантного пероксиредоксина 6 как средства для сохранения морфофункционального состояния изолированных почек может быть эффективным подходом в предупреждении ишемически-реперфузионных поражений органов.

1. Czogalla J., Schweda F., Loffing J. The mouse isolated perfused kidney technique // J. Vis Exp., 2016, vol. 117, p. 54712. doi: 10.3791/54712

2. Шарапов М.Г., Новоселов В.И., Равин В.К. Клонирование, экспрессия кДНК и сравнительный анализ пероксиредоксина 6 различных организмов // Молекулярная биология, 2009, т. 43 (3), с. 505-511.

СКАНИРУЮЩАЯ ИОН-ПРОВОДЯЩАЯ МИКРОСКОПИЯ ДЛЯ БИОФИЗИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Scanning Ion Conductance Microscopy for Biophysical Application

Горелкин П.В., Ерофеев А.С., Корчев Ю.Е.

Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», г. Москва, РФ
gorelkin.pv@misis.ru

Сканирующая ион-проводящая микроскопия (СИПМ) – это одна из разновидностей сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ), использующая в качестве зонда нанокapилляр с электродом, который регистрирует ионный ток, проходящий через его отверстие. СИПМ была разработана для бесконтактного исследования мягких образцов сложной формы, в том числе и живых клеток. Для увеличения скорости сканирования в СИПМ используется hopping протокол. Интеграция алгоритма, реализующего измерение сканирующей ион-проводящей микроскопии в режиме hopping, позволило значительно повысить качества получаемых изображений. Такой режим сканирования позволяет получить изображения разветвленных трехмерных структур с достаточно высоким разрешением, не допуская контакта сканирующего капилляра с исследуемым образцом (рис. 1).

Сканирующей ион-проводящей микроскоп можно совместить с конфокальным модулем; была показана возможность использования такого метода совмещенной ион-проводящей и конфокальной микроскопии для визуализации процессов проникновения наночастиц через клеточную мембрану. СИПМ может быть также совмещена с другими методами, например, с электрохимической микроскопией или методом снятия локального потенциала (patch-clamp).

Было показано, что метод СИПМ может использоваться в механобиологии [1]. Механические свойства живых клеток, определяемые элементами цитоскелета, играют решающую роль в широком спектре биологических функций. Сканирующая ионно-проводящая микроскопия (СИПМ) для количественного наномеханического картирования основана на внутренних силовых взаимодействиях между нанокapилляром и образцами и ранее предлагалась как многообещающая альтернатива традиционным методам. Нами было продемонстрировано использование СИПМ для исследований механизмов возникновения нейродегенеративных заболеваний *in vitro*.

Функционирование цитоскелета нейрональных клеток связано с развитием неродегенеративных заболеваний. Действие бета-амилоидов индуцирует усиление активности Rac1 / Cdc42 GTPases и увеличивает организацию актина в клетках. Наличие внутриклеточных нейрофибрилярных клубков, состоящих из гиперфосфорилированного белка Тау приводит к дестабилизации микротрубочек. Такие изменения в компартаментах цитоскелета приводят к значительным изменениям механических свойств нейрональных клеток. СИПМ в комбинации с конфокальной микроскопией позволяет проводить коррелятивные измерения

Методика СИПМ может быть значительно расширена при комбинации с наноразмерными сенсорами. Ранее разработанные нашим коллективом исследователей сенсоры на основе нанокapилляров были использованы для определения внутри и внеклеточных АФК [2], градиента кислорода и профиля локальных значений pH в клетках и тканях. Нами была продемонстрирована возможность функционализации таких углеродных нанозлектродов платиной, золотом и pH чувствительными мембранами [3]. Нами ранее была показана возможность для исследования градиента концентрации кислорода, уровня АФК и pH внутри и снаружи клеток мозга. Использование нанозлектродов в совокупности с СИПМ позволяет проводить малоинвазивные измерения непосредственно внутри тканей живых мышей и крыс.

1. Kolmogorov V.S., Erofeev A.S., Woodcock E. et al. Mapping mechanical properties of living cells at nanoscale using intrinsic nanopipette-sample force interactions // *Nanoscale*, 2021, vol. 13, pp. 6558-6568. doi: 10.1039/D0NR08349F

2. Vaneev A.N., Gorelkin P.V., Garanina A.S. et al. *In Vitro* and *In Vivo* Electrochemical Measurement of Reactive Oxygen Species After Treatment with Anticancer Drugs // *Analytical Chemistry*, 2020 vol. 92 (12), pp. 8010-8014. doi: 10.1021/acs.analchem.0c01256

3. Zhang Y., Takahashi Y., Hong S.P. et al. High-resolution label-free 3D mapping of extracellular pH of single living cells // *Nat Commun*, 2019, vol. 10, p. 5610. doi: 10.1038/s41467-019-13535-1

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ГЕМОГЛОБИНА С АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА И АЗОТА

Interaction of various nitrosyl complexes of hemoglobin with reactive oxygen and nitrogen species

Грачёв Д.И.^{1,2}, Шумаев К.Б.^{2,3}, Медведева В.А.^{1,2}, Фефлер А.С.¹, Космачевская О.В.³, Рууге Э.К.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ, di.grachev@physics.msu.ru

²Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава России, г. Москва, РФ

³ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва, РФ

Стабилизированные формы оксида азота (NO), связанного с гемоглобином: комплексы NO с гемовым железом (HbNO) [1], и динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), образующиеся на тиоловых группах цистеиновых остатков гемоглобина (Hb-ДНКЖ) [2] – важная физиологическая форма оксида азота. Особый интерес представляет роль подобных комплексов NO в процессах, связанных с окислительным стрессом.

Активные формы кислорода, галогенов (такие как, например, гипохлорит), активные формы азота (например, пероксинитрит) участвуют в воспалительных реакциях и в патогенезе различных сердечно-сосудистых заболеваний, хронических воспалительных заболеваний, онкологических заболеваний и нейродегенеративных расстройств [3, 4].

В нашей работе было рассмотрено взаимодействие нитрозильных комплексов гемоглобина с различными свободными радикалами, такими как гипохлорит, пероксинитрит, а также было изучено образование и взаимодействие с Hb-ДНКЖ органических радикалов (алкильного, алкоксильного, алкилперекисного) на модели с гидропероксидом трет-бутила.

Комплексы NO с гемоглобином исследовались методом спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) на человеческих эритроцитах и в системе с бычьим гемоглобином. Продукция органических радикалов также оценивалась методом спектроскопии ЭПР при помощи спиновой ловушки ДЕРМО.

Было показано, что пероксинитрит, аналогично ClO⁻, количественно разрушает Hb-ДНКЖ, причём в этом случае не происходит нитрозилирования гемовой группы гемоглобина. Кроме того, показано антиоксидантное действие Hb-ДНКЖ при взаимодействии с органическими радикалами.

Предположительно, разрушение ДНКЖ при окислительном и нитрозативном стрессе, может быть важным элементом регуляции метаболизма NO, а также влиять на сигнальную функцию этой молекулы.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант 19-015-00444.

1. Dei Zotti F., Lobysheva I.I., Balligand J.-L. Nitrosyl-hemoglobin Formation in Rodent and Human Venous Erythrocytes Reflects NO Formation From the Vasculature in Vivo // PLoS One, 2018, vol. 13, no. 7. doi: 10.1371/journal.pone.0200352

2. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A. et al. Dinitrosyl Iron Complexes Bind With Hemoglobin as Markers of Oxidative Stress // Methods in Enzymology, 2008, vol. 436. doi: 10.1016/S0076-6879(08)36025-X

3. Панасенко О.М., Торховская Т.И., Горудко И.В., Соколов А.В. Роль галогенирующего стресса в атерогенной модификации липопротеинов низкой плотности // Успехи биологической химии, 2020, т. 60, с. 75-122.

4. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // Physiological reviews, 2007, vol. 87 (1), pp. 315-424.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ СОСТАВА Fe₃O₄-Au В ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНИ КРОНА

Magnetic Nanoparticles Fe₃O₄-Au in the Diagnostic of Crohn's Disease

Григорьева З.А., Гриценко К.А., Ефремова М.В., Абакумов М.А., Невзорова Ю.В., Родионова В.В., Левада Е.В.

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ, kateryna.levada@gmail.com

В последние годы нанотехнологии достигли уровня, позволяющего разрабатывать, производить и характеризовать наночастицы, подходящие для клинических применений, например, в области диагностики различных заболеваний. В нашем исследовании использовались магнитные наноматериалы с различными контролируруемыми свойствами, а именно, размер и модификация поверхности. В этом проекте мы исследовали различные типы магнитных наночастиц в качестве диагностических агентов, которые могут демонстрировать проницаемость кишечника при болезни Крона.

В исследовании использовали контрольную и опытную группы мышей с индуцированным DSS-колитом. Для оценки проницаемости кишечника обе группы животных получали гибридные наночастицы Fe₃O₄-Au

гантелевидной формы с полимерным покрытием DSPE-PEG с использованием желудочного зонда. После этого, через 24 часа анализировалось их накопление в областях за пределами кишечника. Для оценки синдрома «протекающего кишечника» в здоровом и воспаленном кишечнике использовали различные размеры (5 нм, 15 нм и 25 нм) ферромагнитной составляющей наночастиц – Fe₃O₄. Наночастицы вводили в концентрации 20 мг/кг массы тела через 5 дней использования DSS (2% в питьевой воде) для обеих групп животных. Через 24 часа мышей умерщвляли, образцы крови, печени и сухие фекалии исследовали на наличие магнитного момента.

Магнитные свойства образцов исследовали методом вибромагнитометрии. Образцы фекалий контрольной группы мышей показали диамагнитное поведение, типичное для биологических тканей, в присутствии магнитного поля. Был получен магнитный момент наночастиц соответствующей единицы массы пробы фекалий. Для контрольной группы наибольший магнитный момент наночастиц диаметром $d(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 5$ нм на единицу массы образца кала наблюдается через 8 часов после их введения, а у наночастиц диаметром $d(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 15$ нм – через 24 часа. Для образцов с $d(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 25$ нм наибольший магнитный момент на единицу массы образца наблюдается также через 24 часа. Перемагничивание наночастиц, т.е. их наличие обнаружено также для животных с индуцированным DSS-колитом. В среднем магнитный момент наночастиц на единицу массы образца в 2-5 раз выше для контрольной группы по сравнению с группой DSS-колита, что может подтвердить синдром «протекающего кишечника» во время DSS-колита и может быть использовано в качестве будущего подхода для диагностики болезни Крона.

МИКРОРНК В СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ И ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ miRNAs in Synaptic Plasticity and Long-Term Memory Formation

Гринкевич Л.Н.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург, РФ, larisa_gr_spb@mail.ru

Основные трудности изучения молекулярных основ формирования долговременной памяти связаны как с множеством сигнальных систем, интеграция которых необходима для успешного обучения, так и многообразием регуляторных процессов, взаимодействующих на уровне генома. К последним относится регуляция экспрессии генов посредством ДНК-связывающих транскрипционных факторов, а также эпигенетические (над-генетические) модификации, регулирующие структуру хроматина, или трансляцию матричных РНК (мРНК) посредством микроРНК. МикроРНК в последние годы привлекают повышенное внимание исследователей в связи с их важным значением для развития нервной системы, формирования синаптической пластичности и ДП [1].

МикроРНК представляют собой высоко консервативные, небольшие эндогенные РНК, способные подавлять до 70% мРНК, кодирующих соответствующие белки. То есть для огромного количества белков закодирована микроРНК, их потенциальный убийца. При этом одна микроРНК способна регулировать экспрессию целой сети генов (часто несколько десятков), а экспрессия одной мРНК может регулироваться несколькими микроРНК. Следовательно, дисфункция единственной микроРНК может оказывать большой полигенный эффект. В ЦНС экспрессия микроРНК регулируется нейронной активностью и широко вовлекается в формирование синаптической пластичности. В связи с вышесказанным, а также учитывая значительную сложность устройства ЦНС, функции микроРНК изучены еще очень фрагментарно. Важную роль в исследовании эпигенетических процессов в механизмах пластичности играют животные с относительно простым устройством ЦНС, в частности моллюски. В течении многих лет с этой целью мы используем выработку условного рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix* в основе которого лежит изменение эффективности синаптической передачи между нейронами, лежащими в сети данного рефлекса.

Для изучения роли микроРНК в формировании рефлекса пищевой аверзии в качестве подхода применяли нарушение образования зрелых микроРНК через ингибирование активности фермента Dicer. Показано, что нарушение экспрессии miRNA критично для формирования долговременной памяти в определенные временные интервалы (1-3 часа) после процедуры обучения. То есть в формирование данного рефлекса вовлекаются микроРНК потенциально необходимые для блокады мРНК, негативно влияющих на механизмы пластичности. Дальнейшие исследования, проведенные совместно с сотрудниками ИЦиГ и НЦИиВТ СО РАН, показали, что при обучении *Helix* дифференциально экспрессируется около 30 различных консервативных микроРНК причем у половины микроРНК экспрессия растет, а у другой подавляется, что объясняет полученные нами результаты, полученные при блокаде Dicer. Среди зарегистрированных нами микроРНК имеется несколько гомологов, участвующих в формировании ДП у позвоночных и человека. Последние достижения в этой области, а также перспективы применения микроРНК в качестве целевых мишеней для лечения когнитивных нарушений, связанных с дисфункцией микроРНК при нейродегенеративных и возрастных дисфункциях будут обсуждены в докладе. Оптимизм в данной области связан с появлением технологий редактирования геномов CRISPR/Cas направленных на РНК.

Работа поддержана Программой фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2021 годы (ГП-14, раздел 63).

1. Л.Н. Гринкевич. Роль микроРНК в обучении и долговременной памяти // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2020, т. 24, № 8, с. 885-896. Doi: 10.18699/VJ20.687

АКТИВИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ ЦИТОКИНОВ ГЕТЕРОПОЛИКИСЛОТАМИ. Activation of Cellular Expression of Cytokines by Heteropoly Acids

Далидчик Ф.И.¹, Руссу Л.И.², Лопатина О.А.², Суетина И.А.², Бакланова, М. В.², Ковалевский С.А.¹,
Балашов Е.М.¹, Мезенцева М.В.²

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ ²
Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, г. Москва, РФ
dalidchik@mail.ru, embalashov@yandex.ru

Активация врождённого иммунитета и изучение его молекулярных механизмов относятся к числу приоритетных задач современной микробиологии и иммунологии. Определяющую роль в реализации врождённого иммунитета играют цитокины (ЦК) – небольшие (< 30 кД) пептидные молекулы, которые обычно продуцируются клетками в ответ на их частичное разрушение или на появление в клеточных тканях каких-либо патогенов (напр. вирусов) или очагов воспаления, опухолей и т.п.

Система цитокинов (СЦ) обладает свойством саморегуляции, сбой которого, однако, не исключены. В отдельных случаях сбой в системе регуляции клеточных ЦК приводят к катастрофическим последствиям, как это происходит, например, при «цитокиновых штормах» - потенциально летальных осложнениях ковида-19. Сегодня остро востребованы новые иммуномодулирующие препараты и средства, позволяющие регулировать состав и функции цитокинов. Одно из новых направлений поисков таких препаратов может быть связано с применением полиоксометаллатов (ПОМ).

Известные, во многом уникальные биологические свойства ПОМ (противовирусные, противораковые и антибактериальные) в работах [1, 2] были дополнены обнаружением новых, иммунологических свойств этих соединений. Методами ОТ-ПЦР и ИФА в этих работах была показана выраженная экспрессия генов клеточных цитокинов под воздействием гетерополикислот (ГПК). Впервые на примере ГПК Кеггина $[XМ(1)_{12-n}М(2)_nO_{40}]^{-m}$, $X = P, Si; M = Mo, W, V; m = 3, 4, 5$ для ряда клеточных культур (ФЭЧ, А-549 и L-41) было показано, что в диапазоне концентраций водных растворов этих ПОМ от 30 мкМ до 150 мкМ при длительностях инкубации ~ 24 ч осуществляется выраженная экспрессия интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-18), фактора некроза опухолей ФНО- α и интерферонов (ИФН- α , ИФН- β , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3), т.е. практически всех основных клеточных цитокинов - участников патологических и инфекционных процессов. При этом было установлено, что уровни экспрессии генов различных цитокинов зависят как от выбора ГПК, так и от выбора клеточных линий. Природа селективности влияния ГПК на экспрессию клеточных цитокинов, видимо, объясняется селективностью актов взаимодействий многозарядных анионов с билипидными мембранами. (Последняя может проявляться на всех этапах разрушения плазматических мембран растворами ГПК - от появления в мембранах нанопор, облегчающих проникновения анионов внутрь клеток, до образования сквозных микроотверстий, последующего их расширения и окончательного разрушения мембран [3]).

Принципиально важно, что в отдельных случаях по мере роста длительности воздействия ГПК на клетки изменения уровней экспрессии различных цитокинов оказываются разнонаправленными. Это имеет место, например, в случае клеток ФЭЧ и $H_3PW_{12}O_{40}$ (см. Таблицу 4 работы [1], приведенные данные для интерлейкинов и ИФН- α). Значительное повышение количества продуцируемого ИФН- α , известного своими противовирусными свойствами, здесь наблюдается на фоне снижения уровня многих интерлейкинов, в том числе, провоспалительных, избыточное продуцирование которых провоцирует цитокиновый шторм.

1. Лопатина О.А., Исаева Е.И., Суетина И.А. и др. Противовирусная активность полиоксометаллатов и влияние их на экспрессию генов цитокинов // Наноматериалы и наноструктуры – XXI век, 2016, т. 7, № 1, с. 36.

2. Лопатина О.А., Суетина И.А., Мезенцева М.В. и др. Влияние заряда аниона на биологическую активность гетерополикислот Кеггина // Химическая физика, 2020, т. 39, № 1, с. 52.

3. Ковалевский С.А., Лопатина О.А., Гушина Е.А. и др. Деструкция оболочек вирусов гриппа А гетерополикислотами Кеггина // Химическая физика, 2021, т. 40, № 9, (в печати).

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ И pH-ИНДУЦИРОВАННОГО РАЗРУШЕНИЯ БЕЛКОВОГО КАРКАСА ВИРУСА ГРИППА А НА ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ

Physico-Chemical Mechanisms of Formation and pH-Induced Disintegration of the Influenza A Virus Protein Matrix at lipid Membranes

Дениева З.Г., Батищев О.В.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, г. Москва, РФ, zaret03@mail.ru

Вирус гриппа А является одним из наиболее изученных представителей оболочечных вирусов, способных вызывать как сезонные эпидемии, так и масштабные пандемии. Геном таких вирусов спрятан в липопротеиновой оболочке, которую вирус получает в ходе процесса его репродукции. Одним из основных компонентов вируса гриппа А выступает матриксный белок М1, который задействован на таких этапах жизненного цикла вируса, как слияние вируса с клеткой-мишенью, проникновение его генома в цитоплазму клетки, сборка новых вирусных частиц и их отделение от поверхности инфицированной клетки [1]. Нарушение любой из этих стадий препятствует формированию инфекционных вирионов и может ограничить распространение инфекции.

Существенным недостатком известных на сегодняшний день противовирусных препаратов является быстро мутирующая антигенная активность вируса. При этом матриксные белки, наиболее консервативные компоненты вируса, не являлись мишенью действия противовирусных препаратов. Поскольку вирус гриппа проникает в клетку путем эндоцитоза, закисление среды внутри эндосомы служит триггером слияния вирусной и эндосомальной мембран, что, в свою очередь, приводит к конформационным перестройкам компонентов внутри вируса. Таким образом, pH-зависимое разрушение каркаса из белка М1 вируса гриппа является критически важным для заражения клетки [2]. Конечной стадией вирусной инфекции является отпочковывание дочерних вирионов с плазматической мембраны клетки-хозяина, однако точный механизм образования деформаций мембраны для реализации данного процесса до сих пор неизвестен. В связи с этим, важно выяснить молекулярные и физико-химические механизмы формирования и pH-индуцированного разрушения белкового матрикса вируса, а также определить участки матриксных белков, которые отвечают за эти процессы, необходимые для выхода генетического материала вируса и инфицирования клетки, с целью поиска новых противовирусных лекарственных препаратов и методов лечения.

В ходе данной работы с помощью метода липидных нанотрубок, вытянутых из плоских бислоевых липидных мембран (БЛМ), мы исследовали кинетику адсорбции полноразмерного белка М1 и его NM-домена на липидных бислоях при значениях pH 7,0 и 5,0. Полученные нами результаты говорят о том, что полноразмерный белок М1 адсорбируется только на заряженных мембранах, причем присутствие молекул фосфатидилинозитола не оказывает влияния на кинетику процесса. При адсорбции в pH 5,0 полноразмерный белок М1 имеет тенденцию создавать искривленные участки липидной мембраны. По-видимому, для этого процесса критично, чтобы белок адсорбировался на мембрану в виде мономеров и затем олигомеризовался с формированием плотного белкового каркаса. Эксперименты с NM-доменом показывают, что наличие в структуре белка слабо упорядоченного С-домена играет важную роль для способности М1 создавать искривленные участки мембраны. Формирование каркаса из белка М1 сопровождалось увеличением радиуса нанотрубки и последующей ее трансформацией в микротрубку. Такое изменение радиуса нанотрубки может быть вызвано увеличением модуля изгиба или снижением латерального натяжения мембраны. Контрольные эксперименты с детергентом Triton X-100 показали аналогичное поведение липидных нанотрубок, что говорит о способности белка М1 вести себя как поверхностно-активное вещество.

При изучении pH-индуцированного разрушения белкового каркаса М1 на плоских бислоевых липидных мембранах было показано, что понижение pH с 7,0 до pH 5,0 приводит к полному разрушению мембраны, причем эффект зависит от липидного состава бислоя. Закисление среды в случае адсорбированного на мембране в аналогичных условиях NM-домена белка М1 подобного эффекта не вызывает. Полученные данные свидетельствуют о том, что С-концевой участок белка М1 может оказывать значительное влияние на процессы как формирования, так и разрушения белкового каркаса вируса гриппа А в процессе вирусного инфицирования.

1. Rossman J.S., Lamb R.A. Influenza virus assembly and budding // *Virology*, 2011, vol. 411, no. 2. doi: 10.1016/j.virol.2010.12.003

2. Stauffer S., Feng Y., Nebioglu F. et al. Stepwise priming by acidic pH and a high K⁺ concentration is required for efficient uncoating of influenza A virus cores after penetration // *J. Virol.*, 2014, vol. 88, no. 22. doi: 10.1128/JVI.01430-14

БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА, ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ МЫШЕЙ, ОБЛУЧЕННЫХ В ОКРЕСТНОСТИ ВЫСОКОВОЛЬТНОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО РАЗРЯДА В ВОДО-ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ
Biological Reactions in Bone Marrow Cells, Whole Blood and Lymphoid Organs of Mice Irradiated in the Vicinity of a High-Voltage Electric Discharge in an Water-Air Environment

Дюкина А.Р.¹, Заичкина С.И.¹, Поцелуева М.М.¹, Ларюшкин Д.П.¹, Зателепин В.Н.², Баранов Д.С.³, Панчелюга В.А.¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, dyukina@rambler.ru

² Лаборатория ИНЛИС, г. Москва, РФ, zvn07@yandex.ru

³ Объединенный институт высоких температур РАН, г. Москва, РФ, bds07@yandex.ru

В последние десятилетия активно развиваются экспериментальные исследования низкоэнергетических ядерных реакций. В большинстве развитых стран приняты государственные программы поддержки данных исследований. Известная феноменология этих реакций, как правило, включает избыточное энерговыделение, изотопные изменения продуктов реакции, отсутствие обычных ионизирующих излучений, а также некоторое, пока не идентифицированное, излучение, впервые обнаруженное в 2000 г., и получившее название «странное излучение» (СИ). К настоящему моменту существует несколько экспериментальных исследований биологических эффектов СИ, возникающего в ходе сильноточных электрических разрядов. Общей проблемой этих работ является отсутствие адекватных контролей, поскольку, при принятом способе генерации СИ, исследуемые объекты, кроме действия СИ, подвергаются воздействию мощных электромагнитных излучений, сопровождающихся интенсивным оптическим и акустическим излучениями, которые также оказывают заметное влияние на животных. Поэтому первоочередной задачей настоящей работы являлось создание экспериментальной системы, позволяющей разделить действие СИ и сопутствующих излучений, что позволило бы исследование его биологических эффектов. Для этого в качестве генератора СИ использовали высоковольтный разряд в водо-воздушной смеси, а также то обстоятельство, что водяной пар может связывать частицы СИ и транспортировать их по паропроводам. При этом пар, поступающий в экспериментальный бокс «заряжен» частицами СИ, в то время как в контрольный бокс подается «незаряженный» пар напрямую от парогенератора, что позволило создать условия для адекватных контролей.

Таким образом, целью работы было создание экспериментальной установки, позволяющей облучать животных СИ без каких-либо включений, соблюдая все сопутствующие контроли, для проверки его влияния на биологические реакции мышей. Были поставлены следующие задачи: исследовать клеточный состав цельной крови, определить уровень продукции АФК в цельной крови и уровень цитогенетических повреждений в эритроцитах костного мозга, а также клеточность лимфоидных органов (тимус и селезенка) мышей *in vivo*, для выявления данного излучения. Объектом исследования являлись самцы мышей линии SHK, которые были разделены на две группы: в одну группу животных поступал пар с СИ, в другую – без СИ, а также дополнительно две группы с контролями вивария и комнаты, где расположена работающая установка. Для обнаружения биологического эффекта СИ был использован метод радиационной «кросс-адаптации», разработанный нами ранее на мышцах *in vivo* для детектирования повреждений, индуцированных малыми дозами ионизирующих излучений, не выявляемых обычными методами, с помощью дополнительного воздействия на предоблученных животных того же или другого фактора в большой дозе. Животных облучали СИ 40 мин/сут. в течение 1, 2 и 6 дней. Для сравнения биологических эффектов животных подвергали рентгеновскому излучению в дозе 0,1 Гр в качестве положительного контроля и через 24 ч все группы животных облучали выявляющей дозой 1,5 Гр, по стандартной схеме радиационного адаптивного ответа (АО) (0,1 Гр + 1,5 Гр). Через 28 ч после облучения выявляющей дозой рентгеновского излучения мышей выводили из эксперимента методом декапитации и готовили цитологические препараты клеток костного мозга для подсчета цитогенетических повреждений (микроядерный тест), образцы цельной крови для определения уровня продукции активных форм кислорода методом люминол-зависимой зимозан-индуцированной хемилюминесценции и клеточного состава, а также проводили анализ клеточности тимуса и селезенки. На каждую экспериментальную точку использовали не менее 5 мышей. При статистической обработке вычисляли стандартную ошибку среднего, а достоверность различий между группами оценивали по критерию Стьюдента.

Было обнаружено, что воздействие СИ при всех дозах не влияло на уровень спонтанных повреждений по всем изученным параметрам. Предобработка СИ в течение 40 мин снижала повреждающее воздействие рентгеновского излучения в дозе 1.5 Гр по цитогенетическому тесту, уровню продукции АФК и восстановлению клеточности тимуса, т.е. индуцировала АО. При действии СИ 80 мин защитный эффект не наблюдался, в то время как фоны комнаты и пара приводили к индукции АО по выбранным параметрам, а при действии СИ 240 мин защитный эффект также не наблюдался в отличие от положительного контроля. Облучение СИ животных при всех вариантах эксперимента не повлияло на клеточный состав крови.

Выявленные изменения в клетках мышей при облучении СИ в условиях разработанной системы позволяют говорить с большой вероятностью о его повреждающем действии.

ОСОБЕННОСТИ ДЫХАТЕЛЬНОГО ВЗРЫВА В ГРАНУЛОЦИТАХ КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ, УСТОЙЧИВЫХ К ОЖИРЕНИЮ, ПРИ ОСТРОМ ВОСПАЛЕНИИ

Features of Respiratory Burst in Bone Marrow Granulocytes of Obesity-Resistant Mice in Acute Inflammation

Дюкина А.Р.¹, Тихонова И.В.¹, Северюхина М.С.², Сафронова В.Г.¹

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, *dyukina@rambler.ru*

² Филиал ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пущино, РФ

Известно, что ожирение сопровождается системным воспалением, которое способствует развитию многих хронических заболеваний, включая диабет 2 типа, атеросклероз, заболевания печени и некоторые формы рака [1]. Растущее число доказательств свидетельствует о том, что воспалительный каскад при ожирении инициируют, главным образом, полиморфноядерные нейтрофильные гранулоциты (нейтрофилы) [2], наиболее реактивные клетки врожденного иммунитета с высоким цитотоксическим потенциалом, включающим активные формы кислорода (АФК). Обнаружено, что при ожирении функциональная активность нейтрофилов изменяется. Однако влияние воспаления на генерацию АФК, как одну из основных цитотоксических функций нейтрофилов, в условиях устойчивости к ожирению не изучено.

Цель работы – исследовать влияние воспаления на регуляцию активности NADPH оксидазы, катализирующей образование АФК, опосредованную высоко- и низкоаффинными рецепторами формилированных пептидов, и оценить участие митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) в этом процессе у мышей, устойчивых к ожирению.

В исследовании использованы самцы мышей линии C57BL/6j, содержащиеся в барьерных условиях на высокожировой диете в течение 26 недель. Контролем служила группа животных, содержащихся в условиях стандартной диеты (стандартный корм для лабораторных животных - SNIFF R1/M-H V1534-30; калорийность 306 ккал/100 г). Высокожировая диета включала стандартный корм с добавлением топленого свиного сала с содержанием основных питательных веществ в рационе из расчёта 45% жиров, 35% углеводов, 20% белков и общей калорийностью 516 ккал/100 г, поваренную соль и глутамат натрия. Включенные в эксперимент мыши, получавшие высокожировую диету, не отличались от контролей по длине и массе тела, по артериальному давлению. Были сформированы: группа мышей с острым воспалением (опсонизированный зимозан, 150 мкл, 5 мг/мл в растворе Хенкса, внутривенно) и группа сравнения (раствор Хенкса, 150 мкл, внутривенно). Гранулоциты изолировали из костного мозга методом центрифугирования в градиенте плотности перколла по стандартной методике [3]. Метод хемилюминесцентного анализа применяли для оценки интенсивности генерации АФК, которую инициировали 1 мкМ N-formyl-MLF (fMLF, активация высокоаффинных рецепторов к формилпептидам – FPR1) и 1 мкМ WKYMVM (синтетический агонист низкоаффинных fMLF рецепторов – FPR2). Для оценки роли МАРК в сигнализации FPR использовали следующие ингибиторы: 10 мкМ SB202190 и 1 мкМ SB203580 (p38МАРК), 10 мкМ FR180204 (ERK1/2), 10 мкМ SP600125 (JNK). Рассчитывали амплитуду ответа и продукцию АФК. Эффект ингибиторов рассчитывали, как отношение параметра, полученного от клеток, обработанных ингибитором, к параметру контрольных клеток, принятому за 100%.

Параметры дыхательного взрыва (амплитуда ответа и продукция АФК) зависят от концентрации fMLF и WKYMVM. Сравнение концентрационных зависимостей показало, что в группе мышей с острым воспалением в диапазоне концентраций 0,1-10 мкМ fMLF амплитуда ответа и продукция АФК были достоверно ниже параметров у мышей группы сравнения. Группы не отличались по параметрам ответа на 50 мкМ fMLF, что было также характерно для ответов на WKYMVM во всем диапазоне используемых концентраций (0,1-10 мкМ). Ингибиторный анализ показал, что SB202190, SB203580 и SP600125 значительно подавляли вызванный 1 мкМ fMLF дыхательный взрыв в гранулоцитах мышей обеих групп. FR180204 подавлял fMLF-вызванную продукцию АФК у мышей без воспаления, и не изменял данный параметр у мышей с острым воспалением. Ингибиторы p38 подавляли вызванный 1 мкМ WKYMVM дыхательный взрыв в обеих группах мышей, причем в клетках мышей с воспалением наблюдалось более сильное ингибирование. FR180204 и SP600125 не изменяли WKYMVM-вызванную продукцию АФК в гранулоцитах мышей из группы сравнения и достоверно подавляли данный параметр у мышей с острым воспалением. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у мышей устойчивых к ожирению, острое воспаление приводит к подавлению дыхательного взрыва, вызванного преимущественной активацией высокоаффинных рецепторов. МАРК вовлечены в регуляцию активности NADPH оксидазы с значительно более высоким положительным вкладом p38МАРК и JNK в регуляцию генерации АФК клетками животных с воспалением.

1. Kanneganti T.D., Dixit V.D. Immunological complications of obesity // *Nat. Immunol.*, 2012, vol. 13, no. 8, pp. 707-712.

2. Pan Y., Choi J.H., Shi H. et al. Discovery and Validation of a Novel Neutrophil Activation Marker Associated with Obesity // *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 3433.

3. Safronova V.G., Vulpius C.A., Shelukhina I.V. et al. Nicotinic receptor involvement in regulation of functions of mouse neutrophils from inflammatory site // *Immunobiology*, 2016, vol. 221 (7), pp. 761-772.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ ПЛАЗМЕННЫХ СТРУЙ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Effect of Low-Temperature Plasma Jets on Tumor Cell Proliferation

Евтина А.А.^{1,2}, Булдаков М.А.², Нехорошев В.О.³, Ландль Н.В.³

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, РФ

² Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск, РФ, anastasiya10152@gmail.com

³ Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск, РФ

В настоящее время большинство людей в мире умирает по причине возникновения злокачественных новообразований. Наиболее широко используемыми методами терапии онкологических заболеваний является применение физических факторов воздействия, однако, побочные эффекты данных типов терапий слишком пагубно влияют на качество жизни пациентов. Для решения данной проблемы следует обратить внимание на использование низкотемпературной плазмы атмосферного давления в качестве фактора, индуцирующего апоптоз только в опухолевых клетках. На сегодняшний день в литературе описано противоопухолевое действие низкотемпературной плазмы как *in vitro*, так и *in vivo* [1, 2]. Однако, отсутствие информации о режимах воздействия и механизмах действия плазмы не позволяет использовать данный метод в клинической практике.

Исследование проводилось на опухолевых клетках рака шейки матки (HeLa). В качестве генератора плазмы использовалась установка, разработанная в ИСЭ СО РАН, воздействие которой на биологические объекты обусловлено только химически активными частицами в результате ограничения других действующих факторов (электромагнитных полей, нагрева и ультрафиолетового излучения). В эксперименте варьировали кратность плазменной обработки (однократно и двукратно), время между повторной обработкой – 10 мин, 24 ч, 72 ч – при частоте следования импульсов напряжения 2 кГц и времени воздействия 120 с. Оценка пролиферативной активности клеток проводилась на 1, 5, 7 и 9 сутки с помощью МТТ-теста.

По результатам эксперимента было показано, что воздействие струей низкотемпературной плазмы атмосферного давления приводит к ингибированию пролиферативной активности клеток HeLa. Изменение времени между повторами не приводило к усилению ингибирующего эффекта. Ингибирование пролиферативной активности клеток HeLa было максимальным после однократной плазменной обработки и наиболее выраженным на 5-е сутки после обработки (до 85%).

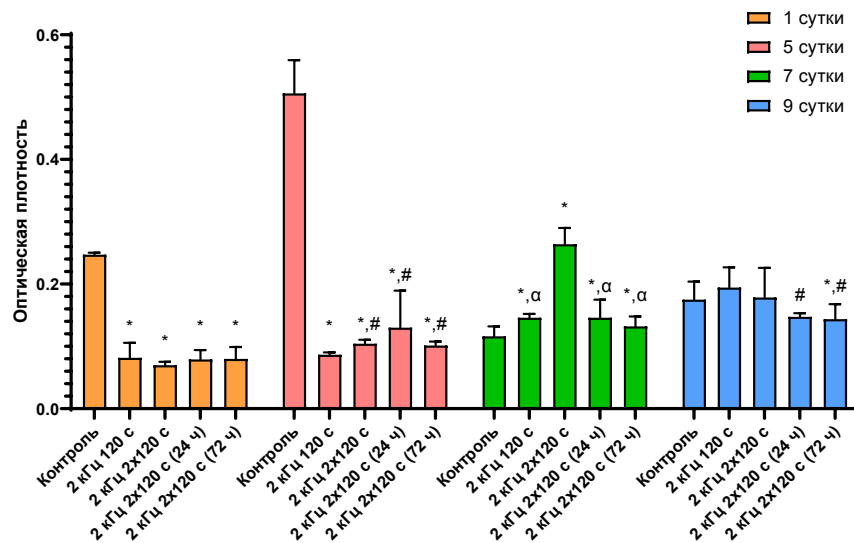


Рисунок 1. Пролиферативная активность клеток HeLa на 1-е, 5-е, 7-е и 9-е сутки после воздействия плазменной струи атмосферного давления с разными параметрами обработки. Примечание: * – статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля; # – 2 кГц 120 с

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования низкотемпературных плазменных струй в качестве противоопухолевого агента, однако, требуются дополнительные исследования механизма действия данного агента как *in vitro*, так и *in vivo*.

1. Keidar M., Walk R., Shashurin A. et al. Cold plasma selectivity and the possibility of a paradigm shift in cancer therapy // *British journal of cancer*, 2011, vol. 105, no. 9. doi: 10.1038/bjc.2011.386

2. Park G.Y., Park S.J., Choi M.Y. et al. Atmospheric-pressure plasma sources for biomedical applications // *Plasma Sources Science and Technology*, 2012, vol. 21, no. 4. doi: 10.1088/0963-0252/21/4/043001

3D-КАРТИРОВАНИЕ pH, КИСЛОРОДА И АФК С ВЫСОКИМ ПРОСТРАНСТВЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ НА ПОВЕРХНОСТИ И ВНУТРИ ЖИВЫХ КЛЕТОК 3D Mapping of pH, Oxygen and ROS with High Spatial Resolution on the Surface and Inside Living Cells

Ерофеев А.С., Горелкин П.В., Корчев Ю.Е.

Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», г. Москва, РФ, erofeev.as@misis.ru

Современная сканирующая ион-проводящая микроскопия (СИПМ) позволяет получать не только топографические изображения живых клеток с высоким разрешением, а также осуществлять количественную доставку молекул на поверхность живых клеток, определять локальные механические свойства и изучать распределение внутри и внеклеточных метаболитов.

Ключевой элемент сканирующей ион-проводящей микроскопии – нанокapилляр – может быть использован в качестве наноразмерного сенсора. На основе нанокapилляра нами был разработан pH-чувствительный сенсор, который содержит самоорганизующуюся цвиттерионоподобную наномембрану на конце [1]. При использовании таких зондов в СИПМ возможно осуществлять точное позиционирование нанозонда на поверхности клетки с помощью обратной связи для мониторинга локального pH с высоким пространственно-временным разрешением и высокой чувствительностью. Зонд был разработан путем сшивания глюкозооксидазы и поли-L-лизина на конце стеклянного нанокapилляра. Чувствительность такого зонда составляет выше 0,01 единицы, сенсор имеет быструю скорость отклика (до ~ 2 мс) и высокое пространственное разрешение (~ 50 нм).

Кроме того, зонды на основе нанокapилляров имеют большие перспективы в качестве внутриклеточных биосенсоров. Ранее нами было показана технология производства углеродных нанозондов на основе кварцевых нанокapилляров, радиус которых может варьироваться в диапазоне 5-200 нм. Функционализация нанозонда платиной позволила контролировать потребление кислорода снаружи и внутри клетки меланомы. Эти новые платиновые нанозонды полезны для понимания клеточного метаболизма кислорода и могут использоваться для изучения окислительно-восстановительных процессов клеток, тканей и организмов. Мы показали, что микротравма межзубных клеток *Chara corallina* связана с резким снижением концентрации кислорода в непосредственной близости от места стимуляции [2]. Данные нанозонды были применены для измерения внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) в культивируемых клетках меланомы, раковых клетках HEK293 и LNCap [3-5]. Нами ранее была показана возможность для исследования градиента концентрации кислорода, уровня АФК и pH внутри и снаружи клеток. Использование нанозондов позволяет проводить малоинвазивные измерения непосредственно внутри тканей живых мышей и крыс. Уровни АФК измеряли *in vivo* внутри опухоли на разной глубине в ответ на доксорубин [5].

1. Zhang Y. et al. // Nat. Commun, 2019, vol. 10, pp. 1-9.
2. Alova et al. // J. Exp. Bot., 2019, p. 1-13.
3. Erofeev et al. // Sci. Rep., 2018, vol. 8, pp. 1-11.
4. Akasov R.A. et al. // Sci. Rep., 2019, vol. 9, pp. 1-11.
5. Vanev et al. // Anal. Chem., 2020, vol. 92, pp. 8010-8014.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ ПЕЧЕНИ Impact of Electric Fields on Liver Catalase Activity

Жукова О.Ю., Бабичева В.И., Зубарева И.С.

Омский государственный медицинский университет, г. Омск, РФ, booto@list.ru

Электротерапия широко используется в клинической практике для лечения и профилактики различных заболеваний. Находят применение все известные в физике токи, электрические поля и их составляющие. В последнее время на рынке появились коммерческие устройства для вихревой электростатической терапии – катушки Мишиша/Теслы [4], эффективность которых неоднозначно оценивается пользователями. Имеются данные об изменении активности антиоксидантных ферментов в ответ на воздействие электромагнитным [1] и электростатическим [5] полями. Молекулярные механизмы влияния электрических полей на активность ферментов живых тканей недостаточно изучены. Фермент антиоксидантной системы каталаза известен как биомаркер при изучении действия различных факторов на живой организм [2]. В нашей работе мы исследовали реакцию каталазы на высоковольтное электростатическое и электромагнитное поля высокой частоты (от 100-600 кГц), низкого напряжения (до 20 В) и малой силы тока (0,3 А), используемые в упомянутом устройстве.

Эксперимент проводили *in vitro*. Активность каталазы определяли спектрофотометрически по методу М.А. Королюка [3]. Готовили 10% гомогенат куриной печени с использованием 0,15 М раствора хлорида калия (pH=7). В качестве источника высоковольтного электростатического поля и электромагнитного поля высокой частоты (фактическая частота генератора 273,5 кГц), низкого напряжения (0,2-0,4 В) и малой силы тока (95-100 мА) использовали многофункциональный сертифицированный генератор сигналов «Live Sinus 5» с

излучателем – емкостной катушкой Мишина/Теслы, а также несертифицированный опытный образец прибора, генерирующий одновременно оба поля, предоставленный для испытаний ООО «Центр новых технологий» (Омск). Микропробирку Эппендорф с 1,5 мл гомогената устанавливали в пластиковый штатив непосредственно над излучателем. Воздействие осуществляли в течение 30 минут. Одну пробирку помещали в электростатическое поле (С), другую в электромагнитное (М), на третью – воздействовали одновременно электростатическим и электромагнитным полем (С+М), четвертую пробирку оставляли в штативе на столе (К). Пробирки во время воздействия находились в разных кабинетах и расстояние между ними составляло не менее 7 м. Проводили по 10 повторных измерений в каждой группе. Нормальность распределения данных проверяли по критерию Шапиро-Уилка. Для вариационного анализа применяли непарный t-тест с критерием равенства дисперсий Ливиня.

Действие электростатического поля в течение 30 мин привело к снижению активности каталазы на 17% ($p < 0,001$), по сравнению с контрольной пробиркой. Электромагнитное поле, наоборот, повысило активность фермента на 5% ($p = 0,019$). Одновременное воздействие электростатического и электромагнитного полей не привело к существенным изменениям в активности этого антиоксидантного фермента ($p = 0,453$).

Таблица 1. Активность каталазы печени, нкат/г ткани

Среднее значение ± стандартная ошибка			
К	М+С	С	М
93,99±1,32	95,18±0,78	77,91±1,50*	98,96±1,39*

Примечание: * – различия достоверны

Высоковольтное электростатическое и электромагнитное поле высокой частоты (273,5 кГц), низкого напряжения (0,2-0,4 В) и малой силы тока (95-100 мА) оказывают антагонистический эффект на активность фермента каталазы, одновременное действие этих полей не вызывает изменений в активности каталазы. Особенности влияния электрических полей на антиоксидантные ферменты, одним из которых является каталаза, могут определять показания для их применения в физиотерапии.

1. Азанова А.В., Сергеева Е.Ю., Фелелова Ю.А. и др. Исследование действия магнитного поля промышленной частоты как экологического фактора, изменяющего активность ферментов антиоксидантной системы человека // Вестник КрасГАУ, 2012, № 5, с. 254-256.

2. Безручко Н.В., Рубцов Г.К., Ганяева Н.Б. и др. Каталаза биологических сред организма и ее клинико-биохимическое значение в оценке эндотоксикоза // Вестник ТГПУ (TSPU Bulletin), 2012, т. 7 (122), с. 94-98.

3. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело, 1988, № 1, с. 16-19.

4. Устройство для терапии электрическим полем: пат.184786U1. Рос. Федерация: МПК А61N 1/32/ Мишин Александр Николаевич: автор; Куницын Юрий Геннадьевич: заявитель и патентообладатель. – № 2018117960; заявл. 15.05.2018; опубл. 08.11.2018, Бюл. № 31. – 8 с.

5. Cieslar G., Malyszczek-Tumidajewicz J., Sowa P., Sieron A. Impact of static electric field on prooxidant-antioxidant balance in rats // COMPEL, 2012, vol. 31, no. 4. doi: 10.1108/03321641211227483

СРАВНЕНИЕ ТОЧНОСТИ МЕТОДОВ ЭЛЕКТРООКУЛОГРАФИИ (ЭОГ) И ВИДЕООКУЛОГРАФИИ (ВОГ) ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ТЕСТА ИМПУЛЬСА ГОЛОВЫ Comparison of the Accuracy of Electrooculography (EOG) and Videoculography (VOG) Methods in the Head Impulse Test

Зайцев В.А., Плешков М.О., Старков Д.Н., Демкин В.П.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, vasilysushi@gmail.com

Различные заболевания и повреждения внутреннего уха приводят к нарушениям вестибулярной функции [1]. Своевременная клиническая оценка функционального состояния вестибулярного аппарата помогает понять причины нарушения работы органов равновесия и прийти к эффективному лечению. Поскольку глазодвигательная система связана с вестибулярным аппаратом посредством вестибуло-окулярного рефлекса (ВОР), с помощью которого при повороте головы глаза поворачиваются с той же скоростью, но в противоположном направлении, то достоверную оценку состояния данного органа можно дать, оценив состояние ВОР [2].

Для оценки состояния ВОР применяются различные методы отслеживания и записи движения глаз, среди которых наиболее распространенными являются видеоокулография (ВОГ) и электроокулография (ЭОГ).

Тест импульса головы можно считать «золотым стандартом» среди вестибулярных тестов, поскольку он наиболее информативен при оценке ВОР [3].

В данной работе скорости движения головы и глаз были одновременно записаны при помощи методов ЭОГ – IMPAQ (Maastricht, the Netherlands) и ВОГ – ICS Impulse (GN Optometrics, Taastrup, Denmark) во время теста импульса головы в группе шести добровольцев. Пиковые скорости поворота головы лежали в диапазоне от 150 до 250 градусов в секунду. Сигналы были обработаны фильтром низких частот с частотой отсечки 10 Гц. Каждый импульс головы был найден по пиковому значению скорости, а все импульсы, направленные в одну сторону были кросс-коррелированы и усреднены.

Для сравнения скоростей глаз во время усредненного импульса головы, записанных с помощью систем ЭОГ и ВОГ, для каждого добровольца была построена линейная регрессионная модель зависимости сигнала ЭОГ от ВОГ. В таблице 1 представлены параметры каждой из построенных регрессионных моделей.

Таблица 1. Параметры регрессионной модели зависимости ЭОГ от ВОГ для каждого добровольца

Доброволец	1	2	3	4	5	6	Среднее	Стандартное отклонение
Коэффициент (св. член)	0,41	0,60	-0,13	0,68	-0,600	-0,05	0,15	0,50
Коэффициент (ВОГ)	0,99	0,96	0,99	0,98	1,03	0,99	0,99	0,02
Станд. ошибка (св. член)	0,2	0,12	0,05	0,38	0,25	0,10	-	-
Станд. ошибка (ВОГ)	0,003	0,020	< 0,001	0,004	0,004	0,002	-	-
t – критерий (св. член)	2,03	5,02	-2,80	1,87	-2,42	-0,49	-	-
t – критерий (ВОГ)	322,20	535,16	1137,46	221,14	259,16	496,76	-	-
p – значение (св. член)	0,040	< 0,001	0,005	0,005	0,016	0,628	-	-
p – значение (ВОГ)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	-	-

Полученное среднее значение коэффициента наклона линейной модели (0.99 ± 0.02) свидетельствует о хорошем согласии между усредненными скоростями глаз, записанными методами ЭОГ и ВОГ при проведении теста импульса головы, что подтверждает целесообразность использования метода ЭОГ при проведении теста импульса головы в клинической практике.

1. Lucieer F., Vonk P., Guinand N. et al. Bilateral Vestibular Hypofunction: Insights in Etiologies, Clinical Subtypes, and Diagnostics // *Front. Neurol.*, 2016, vol. 7. doi: 10.3389/fneur.2016.00026

2. Ito M. Cerebellar control of the vestibulo-ocular reflex – around the flocculus hypothesis // *Annu Rev. Neurosci.*, 1982, vol. 5. doi: 10.1146/annurev.ne.05.030182.001423

3. Strupp M., Kim J.S., Murofushi. T. et al. Bilateral vestibulopathy: Diagnostic criteria Consensus document of the Classification Committee of the Bárány Society // *J. Vestib. Res.*, 2017, vol. 27, no. 4. doi: 10.3233/VES-170619

АППАРАТ ХРОНОФИЗИОТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПУТЁМ УСТРАНЕНИЯ ДЕСИНХРОНОЗА

Chronophysiotherapy Device for Treatment of Diseases by Eliminating Desynchronization

Зарубин В.Н.

ООО «Международный центр «Рубин», г. Новосибирск, РФ, mcrubin@bk.ru

Согласно свойству ритмичности живой материи все биопроцессы, протекающие в организме, периодически повторяются в определённых диапазонах частот, т.е. имеют свои биоритмы [1]. Поэтому при заболевании в организме возникают две взаимозависимые (сопряжённые) патологии: физиопатология – нарушение биопроцессов и хронопатология – отклонение их биоритмов от нормы – десинхроноз. Таким образом, все заболевания сопровождается десинхронозами и представляют собой комбинацию двух сопряжённых патологий: хронофизиопатологию, лечить которую можно как методами фармакотерапии, так и хронофизиотерапии. Согласно сопряжению этих патологий, устранение одной из них будет сопровождаться устранением другой. Это открывает новые возможности в области медицинской биофизики: лечение заболеваний путём устранения десинхронозов. Однако проблема заключается в отсутствии аппаратных методов лечения десинхронозов путём коррекции отклонений, возникших в биоритмах больного организма.

С целью решения этой проблемы разработан и запатентован метод ресинхронизации (восстановления) биоритмов больной ткани на основе явления усвоения ритма живыми организмами [2]. Это явление лежит в основе адаптации биологических систем к внешним условиям в процессе их эволюционного развития и позволяет

регулировать их биоритмы внешними синхронизаторами. Оно характеризует способность тканей, органов и организма в целом перестраивать свои биоритмы под воздействием внешних ритмов и сохранять эти изменения после окончания воздействия. В качестве источника внешних ритмов используется электромагнитное поле (ЭМП) частотой биоритмов здоровой ткани, в которой возник патологический процесс [3]. Принцип лечения заключается в следующем. Если на больную ткань подействовать ЭМП частотой биоритмов здоровой ткани, то, в результате явления усвоения ритма, биоритмы больной ткани перестроятся на частоту биоритмов здоровой ткани, произойдёт синхронизация биоритмов и устранение десинхроноза, а это, согласно сопряжению патологий, приведёт к восстановлению нарушенных биопроцессов (устранению физиопатологии) и выздоровлению.

Для реализации этого метода разработан и запатентован аппарат хронофизиотерапии [4], который представляет собой аппаратно-программный комплекс (АПК) хрономагнитотерапии (ХМТ) с двумя функциями лечения: хронотерапии и магнитотерапии. Функция хронотерапии реализует основной метод лечения: аппарат генерирует заданную частоту из соответствующего диапазона биоритмов здорового организма, в результате чего в больной ткани возникает явление усвоения ритма, запускается процесс ресинхронизация биоритмов и устранения десинхроноза. Это сопровождается восстановлением нарушенных биопроцессов и выздоровлением организма. Функция магнитотерапии реализует вспомогательный метод лечения, который за счёт реологического эффекта оказывает на организм дополнительное стимулирующее воздействие и тем самым ускоряет процесс выздоровления. На аппарат получено регистрационное удостоверение Росздравнадзора.

Аппарат хронофизиотерапии обладает следующими конкурентными преимуществами.

1. На рынке отсутствуют аппараты с функцией хронотерапии, в которых лечебным фактором является частотная составляющая ЭМП (нет прямых аналогов).
2. В результате целевого частотного воздействия на биоритмы больной ткани, отсутствует побочное действие на организм и обеспечивается безопасность лечения.
3. Отсутствие побочных эффектов и реализация одновременно двух функций лечения позволяет повысить эффективность лечения на 15% по сравнению с методами фармакотерапии.
4. Аппарат находится в одном ценовом диапазоне с функциональными аналогами: аппаратами магнитотерапии такого же класса.

Научная новизна и отсутствие конкурентов на рынке подтверждается заключением международной Экспертной коллегии Фонда развития инновационного центра «Сколково», НП ТП «Медицина будущего» и финского экспертного центра Kasve Ltd.

1. Загускин, С.Л. Ритмы клетки и здоровье человека Монография / Южный федеральный ун-т. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2010, 292 с.
2. Зарубин В.Н. Способ терапевтического воздействия низкочастотным импульсным ЭМП // Патент РФ на изобретение № 2616330.
3. Бабич П.И., Зарубин В.Н. Управление биопроцессами путём воздействия ЭМП на их биоритмы // VI Международная конференция молодых учёных: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов – 2020. Раздел 2. «Биофизика»: Сб. тез. / АНО «Инновационный центр Кольцово». Новосибирск: ИПЦ НГУ, 2020, с. 191-192.
4. Зарубин В.Н., Семин М.М. Магнитоимпульсный низкочастотный терапевтический аппарат // Патент РФ на полезную модель № 120878.

СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И СТАБИЛЬНОСТЬ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ НАНОСИТЕЛЕЙ ДЛЯ ПОРФИРИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ **Structural Characteristics and Stability of Liposomal Nanocarriers for Porphyrin Photosensitizers**

Зорина Т.Е.¹, Кравченко И.Е.¹, Баран Л.В.¹, Зорин В.П.^{1,2}

¹ Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь, zorinante@mail.ru

² Международный государственный экологический институт им. Сахарова, г. Минск, Беларусь

Наноразмерные системы, созданные на основе амфифильных молекул, в настоящее время вызывают большой интерес в фармакологии в качестве систем введения различных лекарств. Их применение позволяет проводить целевую доставку лекарственных препаратов в организме без потери активности, осуществлять их пролонгированное действие, регулировать накопление включенных соединений в различных органах и тканях [1]. Использование таких систем как фосфолипидные везикулы, полимеры, циклодекстрины и др. – один из наиболее распространенных способов введения нерастворимых в воде порфириновых фотосенсибилизаторов (ФС) при проведении фотодинамической терапии. Процессы биораспределения при этом существенно зависят как от свойств самого активного соединения, так и от структурных характеристик частиц-носителей.

Целью данной работы являлись исследование физических характеристик липидных везикул, нагруженных ФС, влияние нагрузки (соотношения липид:пигмент) на их структурные и функциональные свойства, оценка устойчивости липосомальных форм ФС.

С использованием экструзионного метода были получены образцы липосом из димеристоилфосфатидилхолина (ДМФХ) с различной степенью нагрузки производными хлорина e_6 (ПХл e_6) – диметилловым эфиром Хл e_6 (ДМЭ) и триметилловым эфиром Хл e_6 (ТМЭ). В качестве основных показателей различных типов липидных везикул, содержащих ДМЭ или ТМЭ, служили степень включения ФС в везикулы и устойчивость липидных везикул при инкубировании в водном растворе. Для определения степени включения ФС в липосомы был применен стандартный метод очистки липосомальной дисперсии от несвязанного сенсбилизатора, основанный на использовании колоночной гель-хроматографии.

Определение структурных характеристик проводили методами динамического рассеяния света и атомно-силовой микроскопии (АСМ). На основании анализа АСМ-изображений были построены трехмерные модели липосомальных наночастиц и определены их средние размеры. Методом АСМ проведена оценка влияния нагрузки ФС на структурные характеристики липидных везикул. Были определены размеры липосом в контроле и при соотношении ДМЭ:ДМФХ (1:40) и (1:100). Согласно результатам, полученным методом динамического светорассеяния и АСМ, значения среднего диаметра липосом практически совпадают и находятся в пределах 100 – 110 нм. Показано, что нагрузка липидных везикул ФС не влияет на форму и размеры липосомальных частиц. Полученные липосомальные формы хлоринов характеризуются низким уровнем полидисперсности.

Спектральные характеристики ДМЭ и ТМЭ в составе липидных везикул практически не изменяются при увеличении степени нагрузки в диапазоне соотношений пигмент: ДМФХ от 1:1000 до 1:100. Однако от степени нагрузки существенно зависит как величина коэффициента экстинкции, так и величина интенсивности флуоресценции.

Показано, что особенности структуры ФС оказывают существенное влияние на скорость перераспределения ПХл e_6 на белки и липопротеины. Практически все молекулы ДМЭ перераспределяются на транспортные белки сыворотки крови в течении 10-15 минут, тогда как для перераспределения молекул ТМЭ необходимо более 60 минут. При этом, перераспределение ФС даже из сильно окрашенных везикул, при нагрузке липосом 1:20, на биологические структуры полностью восстанавливает уровень квантового выхода генерации синглетного кислорода [2].

Отмечена высокая устойчивость липидных везикул из ДМФХ, нагруженных ДМЭ. Показано отсутствие изменений их структурных и фотофизических свойств на протяжении хранения лиофилизированной липосомальной формы ДМЭ в течение 6 месяцев.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ, грант №М20Р-279.

1. Abu Lila, Ishida T. Liposomal Delivery Systems: Design Optimization and Current Applications // Biol. Pharm. Bull., 2017, vol. 40, pp. 1-10. doi: 10.1248/bpb.b16-00624
2. Zorina T.E., Yankovsky I.V., Kravchenko I.E. et al. Evaluation of Phototoxicity and Cytotoxicity for Chlorin e_6 Ester Derivatives and Liposomal Forms // Biophysics, 2015, vol. 60, no. 5, pp. 759-766.

ВОДНО-ЭТАНОЛЬНЫЕ РАСТВОРЫ КАК СРЕДА ДЛЯ АССОЦИИАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАКРОМОЛЕКУЛ

Water-Ethanol Solutions as a Medium for Biological Macromolecules Association

Зуева О.С.¹, Макарова А.О.², Туранов А.Н.², Зуев Ю.Ф.²

¹ Казанский государственный энергетический университет, г. Казань, РФ, ostefzueva@mail.ru

² Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ «Казанский научный центр РАН», г. Казань, РФ

Этанол, являясь побочным продуктом всевозможных ферментативных реакций, происходящих в живых системах, часто присутствует в биологических средах природного происхождения. Для правильного описания процессов, происходящих с совокупностью биологических макромолекул, необходимо уметь предсказывать поведение каждого компонента не только в водных, но и в водно-этанольных средах, микроструктура которых зависит от их состава. Для пищевой и медико-фармацевтической отраслей промышленности подобные среды играют еще более важную роль, поскольку этанол здесь может выступать не только в качестве добавки, но и в качестве соразтворителя [1,2]. Кроме того, при попадании, например, лекарства внутрь организма исходная концентрация водно-этанольной среды претерпевает изменения, которые определенным образом могут сказываться на свойствах компонент. Не стоит забывать и о применении этанола в технических целях, где он используется в качестве растворителя и в качестве экологически чистого топлива. В связи с развитием возобновляемой энергетики и все более широким использованием этанола в качестве биотоплива возрастает интерес к регулированию свойств этанольных смесей за счет высокомолекулярных добавок. Именно этим объясняется неугасающий интерес к водно-этанольным смесям и их взаимодействиям со всевозможными органическими веществами.

Молекулярная структура бинарных водно-этанольных смесей не соответствует варианту идеального смешивания, на что указывает нелинейное изменение термодинамических и физико-химических характеристик смесей в зависимости от соотношения этанола и воды. Различными методами было показано, что в подобных системах имеет место не просто неполное перемешивание, но происходит микроскопическое фазовое

расслоение, приводящее к различным видам супрамолекулярной организации, зависящим от соотношения вода/этанол. Таким образом, по мере увеличения концентрации этанола структура бинарного растворителя меняется от молекул спирта, включенных в клатратоподобную структуру из молекул воды, до микрокластеров воды, диспергированных в спирте. Подобная микрогетерогенность влияет как на сольватацию молекул растворенного вещества, так и на процессы ассоциации растворенных молекул [3]. Поэтому в растворах органических веществ в бинарных средах конкуренция между гидрофильными и гидрофобными группами каждого из трех компонент зависит от их концентраций и оказывает влияние на процессы образования супрамолекулярных структур. Изучение поведения простейших амфифильных молекул поверхностно-активных веществ (ПАВ), таких, например, как додецилсульфат натрия (ДСН), в водно-этанольных средах позволит лучше понимать некоторые особенности поведения более сложных макромолекул, в том числе биологических макромолекул в природных жидкостях.

Изучены зависимости удельной электрической проводимости, коэффициентов самодиффузии и спектральных характеристик ЯМР додецилсульфата натрия в диапазоне концентраций 1-100 мМ в бинарных водно-этанольных средах с объемными концентрациями спирта 0–92,3 %. Показано, что этанол в концентрациях ниже 40% не препятствует мицеллообразованию ДСН, а при концентрациях этанола 40% и более мицеллы ПАВ не образуются. Тем не менее, данные ЯМР показывают наличие в растворах с высокой концентрацией спирта малых ассоциатов, образующихся в результате сольватации комплексов ДСН/этанол/вода, размер и подвижность которых зависит от состава водно-этанольной среды. Обсуждены трансформации структуры и размеров комплексов при изменении содержания этанола в растворе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований, грант № 19-38-90085.

1. Коннова Т.А., Файзуллин Д.А., Эртле Т., Зуев Ю.Ф. Мицеллообразование β -казеина в водно-этанольных растворах // Доклады Академии наук, 2013, т. 448, № 4, с. 480-483. doi: 10.7868/S0869565213040270
2. Faizullin D.A., Konnova T.A., Haertle T., Zuev Yu.F. Secondary structure and colloidal stability of beta-casein in microheterogeneous water-ethanol solutions // Food Hydrocolloids, 2017, vol. 63, pp. 349-355. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.09.011.
3. Зуева О.С., Макарова А.О., Хайрутдинов Б.И. и др. Ассоциация ионного ПАВ в бинарных водно-этанольных средах как показатель изменения структуры и свойств растворителя // Известия Академии наук. Серия химическая, 2021, № 6, с. 1185-1190. doi: 10.1007/s11172-021-3203-6

ИССЛЕДОВАНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ И КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ГИДРОЛИЗОВАННОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ КАК ОСНОВА ДЛЯ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Study of Supramolecular and crystalline Structure of Hydrolyzed Bacterial Cellulose as a Basis for Bioresorbable Banding Materials

Иванова Л.А.^{1,2}, Горшкова Ю.Е.⁴, Бурдаков В.С.^{1,2}, Верлов Н.А.^{1,2}, Баранчиков А.Е.³, Копица Г.П.^{1,4},
Кульминская А.А.^{1,2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,
г. Гатчина, РФ, *Ivanova_la@pnpi.nrcki.ru*

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва, РФ

³ Институт общей и неорганической химии им. Курнакова РАН, г. Москва, РФ

⁴ Лаборатория нейтронной физики им. Франка, Объединенный институт ядерных исследований,
г. Дубна, Московская область, РФ

Бактериальная целлюлоза (БЦ) – это механически прочный гидрогель, синтезируемый некоторыми штаммами грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, построен из наноразмерной сети целлюлозных цепей, образующих кристаллические (до 90 об.%) и аморфные (10 об.%) структурные фрагменты [1]. Уникальные физико-химические и биологические свойства БЦ имеют важное значение для разработки биомедицинских устройств, в том числе, самостоятельных и композитных перевязочных материалов [2]. Однако одним из важных ограничений для широкого использования этого материала в инженерии кожной ткани и заживлении ран является его низкая биodeградируемость из-за отсутствия целлюлаз у людей [3].

В настоящей работе бактериальную целлюлозу, синтезированную штаммом *Gluconoacetobacter hansenii* ATCC 10821, впервые обрабатывали целлюобиогидролазой из дрожжевого гриба *Scytalidium candidum* 3C (CBHSc). Кристаллическая и надмолекулярная структура БЦ на разных стадиях ферментативного гидролиза изучалась методами: рентгеновской дифракции, малоуглового и ультрамалого углового рассеяния нейтронов, атомно-силовой (АСМ) и сканирующей микроскопии (СЭМ), а также низкотемпературной адсорбции азота. Комплексный анализ экспериментальных данных показывает, что ферментативный гидролиз оказывает существенное влияние на как кристаллическую, так и надмолекулярную структуру нативной нано-гель пленки БЦ, представляющей собой 3D полимерную сеть, состоящую из нанолент с толщиной $T \approx 8$ нм и шириной

$W \approx 50$ нм и с развитой удельной поверхностью $S_{\text{БЭТ}} \approx 260 \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$. Обнаружено, что биодegradация в течение 24 часов приводит, во-первых, к уменьшению ($\approx 10\%$) среднего размера кристаллов $D_{\text{нкл}}$ БЦ, во-вторых, к значительному увеличению размеров нанолент и, в-третьих, к существенному уменьшению удельной поверхности до $S_{\text{БЭТ}} \approx 100 \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$. В то же время установлено, что добавление фермента в образцы БЦ не приводило к токсическим эффектам ни в экспериментах *in vitro* на клеточных линиях, ни в экспериментах *in vivo* на крысах, а также показало большую эффективность в сравнении со стандартной терапией.

В настоящий момент проводятся исследования структуры БЦ, гидролизованной другим ферментом – мутантной β -глюкозидазой из гриба *Scytalidium candidum* 3C, обладающей большей ферментативной активностью, однако действующей по другому молекулярному механизму. Нашей целью является подбор наиболее эффективной схемы ферментативного гидролиза для разработки биорезорбируемого материала на основе БЦ.

1. Xue Y., Mou Z., Xiao H. Nanocellulose as a sustainable biomass material: structure, properties, present status and future prospects in biomedical applications // *Nanoscale*, 2017, no. 39 (9), pp. 14758-14781.

2. Bacakova L. et al. Versatile Application of Nanocellulose: From Industry to Skin Tissue Engineering and Wound Healing // *Nanomaterials*, 2019, no. 2 (9), p. 164.

3. Wu Y. et al. Oxidized regenerated cellulose-based hemostat with microscopically gradient structure // *Carbohydrate Polymers*, 2012, no. 3 (88), pp. 1023-1032.

МИКРОВОЛНОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ УСИЛИВАЕТ РАДИКАЛ-ГЕНЕРИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ АКТИВИРОВАННЫХ НЕЙТРОФИЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* Microwave Radiation Enhances the Radical-Generating Ability of Activated Neutrophils in the *in vitro* Experiment

Казаринов К.Д.¹, Полников И.Г.¹, Власова И.И.^{1,2}, Михальчик Е.В.², Гусев А.А.², Баранова О.А.^{1,4}, Щелконогов В.А.^{1,3,4}, Чеканов А.В.^{1,4}

¹ ФИРЭ им. В. А. Котельникова РАН, г. Фрязино, РФ

² Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России, г. Москва, РФ

³ МИРЭА – Российский технологический университет, г. Москва, РФ, kazarinovkonstantin@yandex.ru

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва, РФ

Микроволновое излучение получило широкое применение для передаче ВЧ и СВЧ сигналов в телевизионных системах, радиотелефонах, спецсвязи, СВЧ-печах, радарх и т.д, а также имеет перспективы в использовании для медицинских целей. Поэтому изучение влияния микроволнового излучения на человеческий организм представляет собой значительный интерес. В настоящей работе мы изучали влияние микроволнового излучения крайне высоко частотного (КВЧ) диапазона на активацию нейтрофилов из образцов цельной крови. Для активации нейтрофилов к цельной крови добавляли зимозан или лабораторный штамм *E. coli*, после чего сравнивали активность нейтрофилов в контрольных пробах крови и образцах, подвергшихся воздействию микроволнового облучения. Функциональный ответ нейтрофилов изучался с помощью методов, которые не требовали специальной пробоподготовки и позволяли оценивать функциональное состояние нейтрофилов в крови после воздействия микроволн по измерению люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) цельной крови [1], а также характеристик морфо-функционального состояния нейтрофилов на мазках цельной крови.

Свободно-радикальные реакции играют важную роль в защите организма от инфекций, в частности, в ответе клеток иммунной системы – нейтрофилов и макрофагов на патогены. В ряде исследований показано, что микроволны могут влиять на различные процессы, связанные с развитием окислительного стресса: изменение структуры и функции ферментов, в частности, усиление активности пероксидаз (активации свободно-радикальных процессов в клетках и тканях и усиление активации клеток; изменение ответа клеток иммунной системы и модуляция иммунного ответа организма в целом [2].

Результаты наших исследований показали, что ответ нейтрофилов на оба активатора усиливался в результате воздействия микроволн в течение 15 мин. Облучение изменяло кинетику ХЛ цельной крови, к которой были добавлены *E. coli*, так что ХЛ проб крови, подвергшихся облучению, была в 1,5-2,5 раза выше в течение первых 2 мин измерений. Сравнение результатов нагревания образцов крови при воздействии микроволнового излучения и в термостате показало одинаковое увеличение ответа ХЛ активированных нейтрофилов. Измерение ХЛ изолированных нейтрофилов, ресуспендированных в плазме, доказало, что усиление активации нейтрофилов при облучении не опосредовано другими клетками крови или тромбоцитами. Мы показали также, что излучение может слабо, но достоверно усиливать функциональный ответ миелопероксидазы, важного белка нейтрофилов, который способен продуцировать активные формы кислорода (АФК). Таким образом, наши исследования показали, что КВЧ излучение усиливает ответ нейтрофилов на индуктор активации в цельной крови, увеличивая продукцию АФК в крови. Поскольку

Поскольку КВЧ излучение плохо проникает в биологическую ткань, нагревание тканей может происходить на глубине не более нескольких миллиметров. Повышение температуры происходит медленно и мало по величине. Неглубокое проникновение КВЧ в биологические ткани открывает возможности использования данного излучения для целевой местной терапии с минимальными побочными эффектами и повреждением окружающих тканей. Наша работа показывает возможность применения КВЧ для целенаправленной регуляции местных воспалительных процессов на небольших участках кожи без повреждения здоровых тканей. КВЧ облучение зараженной области может способствовать активации нейтрофилов в ране, что приводит к локальному потенцированию антимикробной активности нейтрофилов. С другой стороны, наши результаты показывают необходимость мягкого применения КВЧ излучения для терапии у пациентов с инфекционными заболеваниями.

Работа выполнялась в рамках госзадания ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН по теме «РЭЛДИС».

1. Казаринов К.Д. Комплекс методов и приборов для изучения электромагнитной чувствительности биологических объектов // Биомедицинская радиоэлектроника, 2020, № 2, с. 5-14.

2. Yakumenko I., Tsybulin O., Sidorik E. et al. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation // Electromagn Biol. Med., 2016, vol. 35, pp. 186-202.

АНАЛИЗ СЕНСОМОТОРНОГО МЮ-РИТМА У ПАЦИЕНТОВ С ЭПИЛЕПСИЕЙ МЕТОДОМ НЕЗАВИСИМЫХ КОМПОНЕНТ

Analysis of Sensorimotor Mu Rhythm in Epilepsy Using ICA

Каримова Е.Д., Катермин Н.С., Буткимбаев С.Е.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Научно-практический психоневрологический центр им. З.П. Соловьева, г. Москва, РФ, nkatemin@yandex.ru

Электроэнцефалография позволяет регистрировать электрические сигналы, генерируемые головным мозгом. Это относительно дешевый и простой в эксплуатации метод исследования функциональной активности мозга. Он известен уже почти сто лет, и традиционно выводы о состоянии пациента (например, о наличии эпилептоформной активности) делаются на основании анализа паттернов электроэнцефалограммы. Необходимость более точного и быстрого решения медицинских и исследовательских задач делает актуальным внедрение компьютерных методов обработки сигнала.

Для физиологов особый интерес представляют функциональные ритмы ЭЭГ, так как снижение амплитуды данных ритмов свидетельствует об активации определенных отделов мозга. Выделяют зрительный альфа-ритм, реагирующий на открытие и закрытие глаз, и сенсомоторный мю-ритм, снижающий свою амплитуду при двигательной активности. Примечательно, что мю-ритм также реагирует не только на выполнение движения, но и на наблюдение, и на представление данного движения. Поэтому считается, что сенсомоторный ритм является маркером активации так называемой зеркальной системы мозга (ЗСМ), участвующей в социальном взаимодействии и распознавании намерений других людей. Для того, чтобы оценить, насколько различается работа данного механизма у здоровых людей и пациентов с различными патологиями, в частности с эпилепсией, необходимо выделить мю-ритм из исходного сигнала. Из-за того, что сенсомоторный мю-ритм и зрительный альфа-ритм имеют общий частотный диапазон (8-13 Гц), разделить их с помощью спектрального анализа затруднительно, необходим более эффективный метод разделения двух этих ритмов. Учитывая, что данные ритмы генерируются различными участками коры (являющимися независимыми источниками), решить данную задачу возможно с помощью анализа независимых компонент. В данном методе предполагается, что сигнал, регистрируемый датчиками, представляется как линейная комбинация статистически независимых источников. Задача разделения состоит в нахождении несмещающей матрицы W . (Сигнал, регистрируемый электродами: $X = (x_1, \dots, x_N)^T$; предполагаемые независимые источники: $S = (s_1, \dots, s_N)^T$; представление регистрируемого сигнала в виде линейной комбинации источников: $X = W^{-1}S$) Существует несколько алгоритмов нахождения данной матрицы; в данном исследовании используется "infomax". Данный алгоритм подбирает источники таким образом, чтобы их взаимная информация была минимальной (а общая энтропия – максимальной). Дополнительное преимущество данного метода состоит в том, что вычисленная матрица содержит в себе информацию о локализации источников на скальпе.

В рамках исследования ЗСМ ставилась задача выявить компоненты, соответствующие сенсомоторному ритму из зарегистрированного ЭЭГ сигнала, а также проанализировать характеристики этих компонент при наблюдении и выполнении двигательных актов у пациентов с фокальной симптоматической эпилепсией по сравнению с контрольной группой здоровых испытуемых.

Регистрацию ЭЭГ осуществляли с помощью энцефалографа-анализатора ЭЭГА-21/26 «Энцефалан 131-03» с 21 электрода. Для всех отведений задавали частоту опроса 250 Гц, полосы фильтрации 0,5—60 Гц. Данные ЭЭГ были получены для пациентов (19 человек) с эпилепсией и контрольной группы (21 человек). Сигнал регистрировался для фоновых проб с закрытыми и открытыми глазами, а также проб с наблюдением, представлением и выполнением различных двигательных актов. Анализ данных осуществлялся с помощью

библиотеки MNE языка Python. После разложения исходного сигнала на независимые компоненты, для каждого испытуемого отбирались источники, соответствующие сенсомоторному ритму.

В результате проведенного исследования была продемонстрирована большая корректность выделения сенсомоторного ритма с помощью анализа независимых компонент по сравнению с анализом сигнала от центральных отведений. Для спектров сигналов центральных отведений наблюдается значительное различие максимальных значений в пробах с закрытыми и открытыми глазами. В спектрах выделенной компоненты мю-ритма столь значительного перепада не наблюдается. Это позволяет сделать вывод о том, что функционально в центральных отведениях регистрируется всё-таки преимущественно альфа-, а не мю-ритм.

Был проведен анализ различий характеристик сенсомоторного ритма у испытуемых двух групп. Было обнаружено, что пик спектральной плотности мощности у пациентов смещен в сторону нижних частот по сравнению со здоровыми испытуемыми. Также пациенты характеризуются меньшей амплитудой максимального значения и большей шириной спектра. Однако на данном этапе исследования статистическая достоверность данных отличий не подтвердилась.

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО МАТРИКСА УРЕТРЫ ПРИ УРЕТРАЛЬНОМ БОЛЕВОМ СИНДРОМЕ МЕТОДОМ НЕЛИНЕЙНОЙ МИКРОСКОПИИ Analysis of the State of Urethral Tissues in Urethral Pain Syndrome by Nonlinear Microscopy

Киселева Е.Б., Стрельцова О.С., Дуденкова В.В., Юнусова К.Э., Елагин В.В.

Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, РФ,
kiseleva84@gmail.com

Состояние соединительнотканного матрикса мочевого пузыря и уретры является одним из факторов, определяющих степень выраженности функциональных нарушений со стороны органов малого таза при их воспалительных, а также не воспалительных заболеваниях [1]. С помощью метода нелинейной микроскопии стало возможным провести качественную и количественную оценку изменений соединительнотканного матрикса слизистой оболочки уретры при уретральном болевом синдроме (УБС) – заболевании, которое до настоящего времени не имеет четких подходов к диагностике и лечению из-за недостаточных знаний об особенностях патогенеза [2]. УБС проявляется субъективными симптомами (жалобами пациента на боли в уретре), не даёт четких проявлений в виде объективных симптомов (в том числе воспалительных), лабораторные показатели свидетельствуют об отсутствии инфекции, в рутинной врачебной практике специальные методы диагностики, позволяющие разобраться в причинах возникновения постоянных болей в области уретры, как правило, не применяются. Патогенетические аспекты УБС изучены слабо, лечение назначается симптоматично, поэтому эффективность такой терапии остается низкой. Вопросы изучения структурных изменений тканей уретры при УБС остаются актуальными и требуют глубокого изучения не только на органном уровне, но и на клеточном.

Целью данной работы стало исследование состояния коллагеновых и эластических волокон тканей уретры при УБС методом нелинейной микроскопии. Объектом исследования служили 12 образцов тканей стенки женской уретры больных УБС (проксимальный отдел), 5 образцов условно нормальной уретры: взятых *post mortem* ($n=3$) и после передней экзентерации по поводу рака шейки матки ($n=2$). Приготовленные неокрашенные депарафинированные гистологические срезы толщиной 10 мкм сканировались с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM 510 META (Carl Zeiss, Германия). В качестве возбуждающего излучения на 800 нм был применен Ti:Sa фемтосекундный лазер MAI TAI (Spectra Physics, США) с частотой следования импульсов порядка 80 МГц и длительностью 100 фемтосекунд. Детекция осуществлялась одновременно в двух каналах с использованием фильтров в диапазонах 362-415 нм (сигнал генерации второй гармоники (ГВГ) коллагена) и 480-554 нм (сигнал двухфотонного возбуждения (ДВАФ) эластина). Полученный от коллагеновых и эластических волокон сигнал на изображениях оценивали визуально и количественно. Были проанализированы следующие параметры: среднее значение, медиана, параметр неоднородности и SAAD (параметр перераспределения коллагена и эластина с глубиной); энергия и когерентность. Все значения получены в условных единицах.

В результате, среднее значение и медиана были статистически достоверно выше ($p<0,05$) в группе УБС (21254 ± 10286 и 18129 ± 10394) по сравнению с нормой (12047 ± 4953 и 8439 ± 4429), что указывает на фиброз соединительной ткани при УБС. Значения параметра неоднородности в группе УБС были ниже ($0,75\pm 0,13$ против $0,94\pm 0,12$ в норме, $p=0,001$), что подтверждало визуальную оценку коллагеновых волокон: в норме они более неоднородны по толщине волокон и пучков и пространственному расположению, при УБС становятся более однородными и гомогенными по структуре, наблюдается фрагментация волокон. Более чувствительный к однородности/неоднородности ГВГ-сигнала параметр – энергия – также показал, что при УБС укладка коллагеновых волокон значительно более однородная (значения выше $2,67\times 10^8\pm 0,68\times 10^8$), чем в состоянии нормы ($1,60\times 10^8\pm 0,66\times 10^8$), $p=0,0003$. Параметр упорядоченности (когерентность) показал, что при УБС более однонаправленная укладка ($0,025\pm 0,011$), а в норме волокна не имеют четко выделенного направления за счет волнистой структуры и более свободного расположения в пространстве ($0,016\pm 0,010$), $p=0,026$. По параметру

SAAD (соотношения вкладов количества коллагена и эластина) было установлено, что при УБС вклад коллагена относительно эластических волокон увеличивается: $0,63 \pm 0,25$ против $0,07 \pm 0,19$ ($p=0,00001$) в норме.

Полученные данные позволяют сделать вывод о нарушении пространственной укладки коллагеновых и эластических волокон, наличии их качественных и количественных изменений при УБС. В целом, при УБС коллагеновых волокон становится больше, они более структурированы (сонаправлены), но однородны по размеру отдельных пучков и интенсивности зарегистрированного ГВ-сигнала. Также, при УБС увеличивается вклад ГВГ-сигнала от коллагеновых волокон относительно эластических.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 19-07-00395.

1. Dudenkova V.V., Maslennikova A.V., Kiseleva E.B. et al. Quantitative Assessment of Radiation-Induced Changes in the Connective Tissue Matrix of the Urinary Bladder by Nonlinear Microscopy // *Sovremennye tehnologii v medicine*, 2018, vol. 10, no. 3. doi: 10.17691/stm2018.10.3.14

2. Phillip H., Okewole I., Chilaka V. Enigma of urethral pain syndrome: why are there so many ascribed etiologies and therapeutic approaches? // *International Journal of Urology*, 2014, vol. 21, no. 6. doi: 10.1111/iju.12396

ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНА Skp *Yersinia pseudotuberculosis* НА АГРЕГАЦИЮ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ МЫШИ И КРОЛИКА ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ pH **Effect of *Yersinia pseudotuberculosis* Skp Chaperone on the Aggregation of Mouse and Rabbit Immunoglobulins at Different pH Values**

Киселева Д.А.^{1,2}, Сидорин Е.В.¹

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, г. Владивосток, РФ, sev1972@mail.ru

² Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, РФ, kiseleva.diana99@mail.ru

В настоящее время актуальна разработка новых и усовершенствование качества ранее выпускаемых лекарственных средств на основе специфических антител. Однако, широкое применение антител в составе лекарств усложняется их нестабильностью в водных растворах при длительном хранении. Зачастую это вызвано самоассоциацией и агрегацией белковых молекул, в результате этих процессов происходят изменения конформации, что влечет за собой нарушение функциональной активности иммуноглобулинов. Решение этой проблемы является важной задачей. Особый интерес вызывает бактериальный шаперон Skp (Seventeen kilodalton protein) из *Yersinia pseudotuberculosis*, который способен связываться с белками и защищать их от агрегации.

Изучение шаперонной активности рекомбинантного Skp бактерии *Yersinia pseudotuberculosis* (rSkp) проводилось на примере иммуноглобулинов кролика и мыши. В качестве белков-мишеней использовали коммерческие препараты антител моноклональных IgG1 мыши и поликлональных IgG кролика, полученных к альбумину человека в качестве антигена.

Методом динамического рассеяния света (ДРС) было установлено, что при длительном хранении (90 дней) антител, интенсивность процесса агрегации различна в зависимости от значения pH среды (табл. 1). Активное проявление шаперонных свойств rSkp в случае IgG кролика наблюдалось при всех, проверенных нами (pH 4,0, 5,0 и 6,0), значениях pH, аналогичный эффект у IgG1 мыши заметен при pH 6,0 и 8,0. Стоит отметить, что при pH 5,0 и 7,0 присутствие шаперона в образце иммуноглобулина мыши приводило к ускорению образования крупных белковых агрегатов. Возможно, подобный результат может быть связан со структурными изменениями (вторичной и третичной структур) моноклональных IgG1 мыши при связывании с rSkp, но для объяснения этого эффекта требуется проведение дополнительных исследований.

Таблица 1. Содержание (%) агрегированных частиц иммуноглобулинов размером больше 10 нм при разных значениях pH среды при длительном хранении (90 дней)

pH	IgG1 мыши		IgG кролика	
	В отсутствии rSkp	В присутствии rSkp	В отсутствии rSkp	В присутствии rSkp
4,0	-	-	48,2	7,2
5,0	0,2	100	90,9	0,7
6,0	0,3	0,3	0,3	5,7
7,0	1,4	100	-	-
8,0	86,5	0	-	-

Оценить влияние rSkp на агрегацию антител так же удалось с помощью иммуноферментного анализа. В качестве антигенов использовали сывороточные альбумины человека (HSA) и быка (BSA). BSA по литературным данным имеет гомологичную аминокислотную последовательность с HSA на 76 %. Влияние rSkp на сохранение

активных форм IgG1 мыши и IgG кролика, способных связываться с HSA, заметно при pH 8,0 и 6,0 соответственно (табл. 2), что обусловлено замедлением процесса агрегации шапероном (табл. 1). Аналогичный эффект rSkp наблюдается в случае BSA при pH 8,0 для IgG1 мыши, при pH 5,0 и 6,0 для IgG кролика.

Таблица 2. Доля связывания иммуноглобулинов с антигенами при разных значения pH среды при длительном хранении (90 дней)

pH	IgG1 мыши		IgG1 мыши с Skp		IgG кролика		IgG кролика с Skp	
	HSA	BSA	HSA	BSA	HSA	BSA	HSA	BSA
4,0	-	-	-	-	0,73	0,47	0,74	0,51
5,0	0,99	0,53	0,97	1,00	0,95	0,68	0,93	1,00
6,0	0,97	0,50	0,98	0,46	1,00	0,69	0,88	0,86
7,0	0,98	0,43	0,97	0,92	-	-	-	-
8,0	0,74	0,22	1,00	0,41	-	-	-	-

Полученные результаты говорят о том, что Skp способен замедлять процесс агрегации иммуноглобулинов, проявление его шаперонной активности зависит от среды, в которой хранятся антитела.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 20-04-00777).

ПРОТЕКТОРНОЕ И РЕДОКС-МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА ПО ОТНОШЕНИЮ К РЕАКЦИОНОСПОСОБНЫМ ТИОЛАМ ГЕМОГЛОБИНА

Protective and Redox Modulating Effect of Dinitrosyl Iron Complexes on Reactive Hemoglobin Thiols

Космачевская О.В.¹, Насыбуллина Э.И.¹, Шумаев К.Б.¹, Новикова Н.Н.², Топунов А.Ф.¹

¹ Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ, lvirus198709@rambler.ru

² Научно-исследовательский центр «Курчатowski институт», г. Москва, РФ

Гемоглобины (Hb) позвоночных содержат поверхностные реакционноспособные цистеины, многие из которых имеют сходную локализацию. Эритроцитарный Hb человека имеет два реакционноспособных цистеина (Cys-93β) на тетрамер. Роль Cys-93β в функционировании гемоглобина и эритроцитов многообразна. Эти тиолы участвуют в метаболизме и экспорте оксида азота (NO), во внутриклеточной редокс-сигнализации, в регуляции равновесия димерной и тетрамерной форм Hb, в регуляции окисления Hb. Высказывается гипотеза, что Cys-93β является аллостерически регулируемым антиоксидантом в эритроцитах. Ранее нами было показано, что с участием Cys-93β формируются динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), которые защищают цистеины от окислительной модификации, вызванной гидропероксидами [1]. Мы предположили, что связанные с гемоглобином ДНКЖ также могут быть модуляторами реакционной активности Cys-93β. Поэтому целью настоящей работы было изучение влияния ДНКЖ на активность SH-групп Hb при действии на него гидропероксида *трет*-бутила (*t*-BOOH), который является водорастворимым аналогом гидропероксидов липидов.

Для оценки реакционной способности сульфгидрильных групп использовали высокоспецифичный флуоресцентный реагент на восстановленные тиолы – ThioGlo1. Влияние включения SH-групп в состав ДНКЖ на их реакционную активность изучали в зависимости от концентрации реагента и *t*-BOOH. Интенсивность флуоресценции Hb-ДНКЖ была выше по сравнению с Hb и линейно возрастала при увеличении концентрации ThioGlo1. Аналогичный результат был и во втором случае, при увеличении концентрации окислителя. Вероятно, включение SH-групп в состав ДНКЖ продлевает время их нахождения в форме тиолат-аниона (R-S⁻), реакционная способность которого во много раз превосходит протонированную форму. Следующим этапом было изучение изменения во времени флуоресценции аддуктов с ThioGlo1 после добавления *t*-BOOH к раствору гемоглобина. В первые минуты реакции наблюдался скачок флуоресценции, который, вероятно, связан с образованием активированных форм тиола: тиолат-аниона (R-S⁻) и сульфеновой кислоты (R-SOH). Включение тиолов в комплексы продлевало время нахождения их в активированном состоянии. Чтобы это проверить, было исследовано взаимодействие *t*-BOOH с восстановленным глутатионом (GSH). Под действием *t*-BOOH тиоловые группы в GSH окислялись и к концу измерений их количество составляло 50% от исходного уровня. В глутатионовых ДНКЖ (GS-ДНКЖ) в первые минуты происходило увеличение флуоресценции и лишь затем снижение. При этом окислилось только 30% тиолов.

Методом ЭПР-спектроскопии было установлено, что под действием пероксинитрита (ONOO⁻) Hb-связанные ДНКЖ дозозависимо разрушаются. При этом они ингибируют окисление цистеиновых, триптофановых и тирозиновых остатков, препятствуют образованию карбонильных производных и ковалентных сшивок между субъединицами Hb, предотвращают деградацию гемовой группы. Протекторное действие ДНКЖ

может быть связано с их способностью восстанавливать оксоферрильную форму гема и непосредственно перехватывать ONOO⁻ и свободные радикалы, возникающие при его гомолизе [2].

Таким образом, было показано, что ДНКЖ могут выступать в качестве протекторов белковых тиолов и регуляторов их реакционной способности [2, 3]. К тому же связывание металлов цистеиновыми лигандами оказывает комплексное защитное действие благодаря одновременному снижению реакционной способности тиола и металла. Это позволяет отсрочить образование стабильных модификаций белковых тиолов в условиях низкого окислительного стресса и, наоборот, ускорить их при высоком уровне стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 19-29-12052) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

1. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A. et al. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress // *Methods in Enzymology*, 2008, vol. 436, pp. 445-461. doi: 10.1016/S0076-6879(08)36025-X

2. Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Шумаев К.Б. и др. Динитрозильные комплексы железа с глутатионовыми лигандами перехватывают пероксинитрит и защищают гемоглобин от окислительной модификации // *Прикладная биохимия и микробиология*, 2021, т. 57, № 4, с. 315-325. doi: 10.31857/S0555109921040097

3. Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Шумаев К.Б. и др. Влияние комплексов железа с оксидом азота на реакционную способность цистеинов гемоглобина // *Прикладная биохимия и микробиология*, 2020, т. 56, № 5, с. 436-445. doi: 10.31857/S0555109920050098

ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА С В ПРИСУТСТВИИ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ

Cytochrome C Peroxidase Activity in the Presence of Phosphatidic Acid

Конюхова С.П., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Минздрава России, г. Москва, Россия, *sopfia.k.2000@gmail.com*

На сегодняшний день хорошо изучены особенности взаимодействия цитохрома С с кардиолипид-содержащими мембранами, при котором резко увеличивается пероксидазная активность цитохрома С, что в свою очередь приводит к запуску программируемой клеточной гибели – апоптозу [1]. Однако показанный механизм еще далек от полного понимания. Например, остается непонятным, почему при наличии кардиолипина и цитохрома С в составе митохондрий нормальных клеток они не уходят в апоптоз. Это может быть связано с тем, что не только кардиолипид, но и другие фосфолипиды могут принимать участие во взаимодействии с цитохромом. Причем количество данных фосфолипидов должно быть регулируемым. Одним из таких фосфолипидов может быть фосфатидная кислота, количество которой регулируется при помощи фосфолипазы D. Однако характер взаимодействия цитохрома С с мембранами, имеющими в своем составе фосфатидную кислоту, остается не до конца изученным. В связи с этим, задачей данного исследования являлось измерение пероксидазной активности цитохрома С в присутствии фосфатидилхолиновых липосом, содержащих фосфатидную кислоту, и ее сравнение с пероксидазной активностью цитохрома С в присутствии фосфатидилхолиновых липосом, содержащими кардиолипид. В качестве контрольных выступали образцы, содержащие смесь цитохрома С и липосом из фосфатидилхолина.

Выбранная экспериментальная модель представлена липосомами, состоящими из:

- ди-олеоил-фосфатидилхолина (DOPC),
- 80% из ди-олеоил-фосфатидилхолина на 20% из ди-олеоил-фосфатидной кислоты (DOPA),
- 80% из ди-олеоил-фосфатидилхолина и на 20% из тетра-олеоил-кардиолипина (TOCL).

При взаимодействии цитохрома С с фосфолипидами изменяется его конформация и это приводит к изменению функциональной активности – резкому повышению его пероксидазной активности, что можно показать при помощи люминол-зависимой хемилюминесценции, и при образовании феноксильного радикала этопозида методом электронного парамагнитного резонанса.

Показано, что цитохром С в присутствии DOPA и TOCL содержащих липосом приводит:

- к увеличению светосуммы люминол-зависимой хемилюминесценции примерно в 5,7 и в 4,6 раз, соответственно. При этом присутствие DOPC содержащих липосом не приводило к значимому изменению хемилюминесценции.
- к изменению количества феноксильного радикала этопозида примерно в 2 раза как в присутствии DOPA, так и TOCL. При этом присутствие DOPC содержащих липосом также не приводило к значимому изменению амплитуды сигнала ЭПР.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о возможном влиянии фосфатидной кислоты на инициацию апоптоза, так как повышение пероксидазной активности должно способствовать изменению проницаемости и порообразованию митохондриальных мембран, а, следовательно, и развитию запрограммированной клеточной гибели.

1. Tyurina Y.Y., Shrivastava I., Tyurin V.A. et al. // *Antioxidants & Redox Signaling*, 2018, pp. 1333-1358.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТАБИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КИНЕТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ОКИСЛЕНИЯ ФЕНОЛОВ The Stable Radicals for Study the Enzyme Oxidation of Phenols

Кравченко Е.М., Кучина Е.С., Лаптева Е.А., Одарюк И.Д.

Донецкий национальный университет, г. Донецк, ДНР, elena_grazhina@mail.ru

Информативным и удобным методом исследования механизма окисления одно-, многоатомных фенолов и их производных является спектрофотометрия. Наблюдаемый при их окислении сложный спектр реакционной смеси затрудняет получение достоверных кинетических данных, что приводит к необходимости поиска дополнительных подходов для исследования кинетики таких процессов.

В работе предложен оригинальный способ изучения кинетики убыли многоатомного фенола в процессе ферментативного окисления с помощью метода селективного окислительно-восстановительного титрования проб реакционной смеси катион-радикалом 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоната) (ABTS^{•+}), традиционно используемым для определения антирадикальной активности спектрофотометрическим методом. Тот факт, что реакция одноэлектронного окисления фенолов этим радикальным агентом протекает быстро и хорошо наблюдается визуально, обуславливает ее удобство для титриметрического анализа.

ABTS^{•+}-радикал получен ферментативным окислением с помощью лакказы из *Trametes versicolor* и выделен методом гель-хроматографии на колонке с сефадексом G-10. Для стандартизации растворов ABTS^{•+} использовали аскорбиновую кислоту. Коэффициент экстинкции, установленный для ABTS^{•+}, составил $(3,3 \pm 0,2) \cdot 10^4 \text{ л} \cdot (\text{моль} \cdot \text{см})^{-1}$, что близко к литературному значению [1]. Применение в качестве восстанавливающих агентов тролокса, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, KI и β -меркаптоэтанола приводит к завышенному значению коэффициента экстинкции. Значения коэффициентов экстинкции, полученные при использовании спектрофотометрического и визуального контроля, совпадают.

В качестве модельных соединений для проверки применимости методики использовали двухатомные фенолы – гидрохинон и 2,3-дигидроксibenзойную кислоту. Мольные соотношения взаимодействия ABTS^{•+} с гидрохиноном и 2,3-дигидроксibenзойной кислотой равны $(2,0 \pm 0,1)$ и $(4,5 \pm 0,2)$ соответственно. По-видимому, процесс окисления гидрохинона, происходящий при титровании, является двухэлектронным, а взаимодействие 2,3-дигидроксibenзойной кислоты с ABTS^{•+}-радикалом протекает по более сложной схеме. Последнее не является единичным случаем, например, при окислении флороглюцина, также обесцвечивающего раствор ABTS^{•+}, соотношение составляет $(2,8 \pm 0,3)$. Хотя полученные значения мольных соотношений не являются целыми и не позволяют однозначно судить о механизме окисления субстрата ABTS^{•+}-радикалом, их можно использовать в качестве фактора эквивалентности при расчете концентрации титруемого фенола.

Кинетику лакказного окисления молекулярным кислородом гидрохинона и 2,3-дигидроксibenзойной кислоты исследовали непосредственно в кювете спектрофотометра и методом отбора проб. Для обеих систем обеспечивали оптимальные условия для действия фермента и протекание процесса в кинетической области. Концентрацию гидрохинона и 2,3-дигидроксibenзойной кислоты вычисляли из титриметрических данных с использованием факторов эквивалентности, определенных ранее. Концентрации гидрохинона и 2,3-дигидроксibenзойной кислоты, определенные титриметрически, меньше, чем при спектрофотометрии, примерно на 30%. Но значения начальных скоростей их расходования статистически не различимы (таблица).

Таблица 1. Начальные скорости лакказного окисления гидрохинона и 2,3-дигидроксibenзойной кислоты

Субстрат	$V_{0, \text{CF}}$, мкМ/с	$V_{0, \text{ABTS}^{•+}}$, мкМ/с
гидрохинон	$2,1 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,3$
2,3-дигидроксibenзойная кислота	$0,57 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,04$

Предложенная методика титрования ABTS^{•+}-радикалом позволяет получить значения начальных скоростей расходования субстрата, достаточно близкие к полученным спектрофотометрическим методом. Она может быть полезна в случаях, когда расходование субстрата невозможно наблюдать спектрофотометрически. Методика состоит из двух этапов – определение фактора эквивалентности путем титрования нескольких известных концентраций исследуемого фенола и исследование ферментативной кинетики методом отбора проб.

Однако применение ABTS^{•+}-радикала не лишено недостатков. В некоторых случаях определение точки эквивалентности при окислении ABTS^{•+}-радикалом затруднено, возможно, из-за протекания побочных процессов

в водной среде. Это обуславливает необходимость поиска других агентов для проведения окислительно-восстановительного титрования. В качестве такого вещества можно использовать *DPPH. Он имеет ряд преимуществ: является коммерческим препаратом и его предварительное получение не требуется; титрование происходит в этаноле, что снижает число побочных реакций по сравнению с водой; происходит полное ингибирование фермента. С помощью аскорбиновой кислоты было определено с высокой точностью значение коэффициента экстинкции для *DPPH, которое составило $(1,9 \pm 0,1) \cdot 10^4$ л·(моль·см)⁻¹. Вычисленное значение f для гидрохинона составило $2,1 \pm 0,2$.

1. Roberta Re et al. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay // Free Radical Biology & Medicine, 1999, vol. 26, pp. 1231-1237.

ИЗМЕНЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОЗОНА

Changes in the Fatty Acid Composition and Free Radical Activity of Rat Tissues during Tumor Growth under Ozone Exposure

Кулагина Т.П.¹, Гапеев А.Б.^{1,2}, Ариповский А.В.³, Жукова Е.С.⁴, Щербатюк Т.Г.^{2,4,5}

¹ Институт биофизики клетки РАН, г.Пушино Московской обл., РФ, *a_b_g@mail.ru*

² Московский государственный областной университет, г.Мытищи Московской обл., РФ, *ozone_stg@mail.ru*

³ Научно-производственная компания «А-БИО», г.Пушино Московской обл., РФ, *aripovsky@rambler.ru*

⁴ Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии Роспотребнадзора, г.Нижний Новгород, РФ, *evgenya_plekhanova@mail.ru*

⁵ Пушинский государственный естественно-научный институт, г.Пушино Московской обл., РФ

Поиск методов и подходов для лечения онкологических заболеваний остается важнейшей проблемой биологии и медицины. Чувствительность опухолевых клеток к повышенному содержанию активных форм кислорода может быть использована для нарушения клеточных механизмов самоадаптации и индукции гибели опухоли. Ранее было показано, что совместное действие озонированного физиологического раствора (ОФР) и фотодинамической терапии приводило к задержке опухолевого роста, тогда как воздействие каждого агента отдельно не приводило к значимым результатам [1]. Поэтому представляет интерес более подробное выяснение влияния каждого агента на клетки и ткани животных-опухоленосителей. Цель работы состояла в определении жирнокислотного состава, содержания малонового диальдегида (МДА), активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в органах и тканях животных при опухолевом росте и при воздействии на животных-опухоленосителей озона в виде ОФР.

В исследованиях использовали половозрелых аутбредных крыс-самцов, разделенных на группы ($n \geq 7$): «интактные», «интактные + ОФР», «опухоленосители», «опухоленосители + ОФР». Моделью неоплазии служила холангиокарцинома РС-1 (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина), трансплантированная подкожно. Действие озона осуществляли внутрибрюшинным введением 0.5 мл ОФР с интервалом 48 ч в течение 10 сут интактным крысам или с 10-х суток после перевивки РС-1. Озоно-кислородную смесь с концентрацией O_3 400 мкг/л получали на озонаторе «ТЕОЗОН» (РФЯЦ-ВНИИЭФ, Саров, Россия) [2]. Жирнокислотный состав определяли методом газовой хроматографии [3]. Тестом с тиобарбитуровой кислотой детектировали продукты перекисного окисления липидов, основным из которых является МДА. Об активности СОД судили по реакции восстановления нитросинего тетразолия, каталазы - на основе изменения оптической плотности в области поглощения пероксида водорода.

Обнаружено, что воздействие ОФР на интактных крыс способствовало увеличению содержания олеиновой кислоты, суммарного количества моно-, полиненасыщенных и общего количества жирных кислот (ЖК), а у опухоленосителей вызывало увеличение содержания насыщенных и полиненасыщенных ЖК и количества линолевой кислоты в тканях тимуса. В плазме крови опухоленосителей увеличивалось содержание докозагексаеновой кислоты, но уменьшалось количество пальмитиновой и пальмитолеиновой кислот. После воздействия на опухоленосителей ОФР количество докозагексаеновой кислоты снижалось до уровня интактных животных. Наличие опухоли у крыс приводило к снижению активности каталазы в печени, а воздействие ОФР усилило этот эффект. Количество МДА увеличивалось в эритроцитах животных с опухолью и после воздействия на них ОФР. В печени количество МДА снижалось после воздействия ОФР на опухоленосителей. Предполагается, что ОФР, как и развитие опухоли, запускают стресс-индуцированные тканеспецифичные реакции в организме, которые зависят от типа опухоли и стадии опухолевого роста. Полученные данные указывают на важность корректной дозировки ОФР для управления интенсивностью и направленностью окислительных процессов при опухолевом росте.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-02-00667).

1. Щербатюк Т.Г., Жукова (Плеханова) Е.С., Никитина Ю.В., Гапеев А.Б. Окислительная модификация белков в тканях крыс при опухолевом росте в условиях озono-фотодинамического воздействия // Биофизика, 2020, т. 65, № 2, с. 367-375. doi: 10.31857/S0006302920020209
2. Буранов С.Н., Горохов В.В., Карелин В.И., Селемир В.Д. Устройство для озонотерапии. Патент на изобретение RUS 2249445, 2003.
3. Кулагина Т.П., Ариповский А.В., Гапеев А.Б. Изменение жирнокислотного состава клеток тимуса, печени, плазмы крови и мышечной ткани у мышей с солидной формой карциномы Эрлиха // Биохимия, 2012, т. 77, вып. 2, с. 231-239.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ КАК НОСИТЕЛИ ХОЛЕСТЕРИНА, НЕ СВЯЗАННОГО С ЛИПОПРОТЕИНАМИ

Extracellular Vesicles as Carriers of Non-Lipoprotein Cholesterol

Ланда С.Б.^{1,2}, Верлов Н.А.¹, Филатов М.В.¹, Бурдаков В.С.¹, Эммануэль В.Л.²

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина, РФ, sergey.landa@gmail.com

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, РФ

Внеклеточные везикулы (ВВ) – микрочастицы размером от десятка нанометров до микрона, обнаруживаются практически во всех биологических жидкостях. К микрочастицам относятся внеклеточные везикулы (ВВ) – частицы размером менее 120 нм, микровезикулы – частицы от 100 до 250 нм и апоптотические тела – частицы крупнее 200 нм. Значительный интерес представляют ВВ, включающие в себя экзосомы и экзомы, поскольку являются биологическими маркерами состояния клеток, что может быть использовано для диагностики, выполняют регуляторные функции и могут участвовать в межклеточной сигнализации. Номенклатура экзосом остается недостаточно разработанной. Большинство исследователей пытаются классифицировать их, основываясь на способе образования, физико-химических характеристиках (размеру, плотности и т.п.) и наличию тетраспориновых маркеров CD9, CD63 и CD81.

Хотя нами еще 2010 году с помощью метода динамического светорассеяния, было показано, что гистограмма распределения экзосом по размерам (PSD) бимодальна [1]: ВВ делятся на две фракции, имеющие средние размеры порядка 25 и 90 нм, только в 2018 г. методом фракционирования в силовом поле (*asymmetric flow field-flow fractionation – a4f*) [2] было выявлено два подтипа экзосом, а также частицы, с размером менее 50 нм, которым дали название «экзомы», отличаются от экзосом по белковому и липидному составу. Однако, до настоящего времени продолжаются споры продуцируются ли экзомы клетками, или являются продуктом клеточной гибели.

Данные изложенные в настоящей работе показывают, что экзомы хотя и несут биомаркеры, характерные для ВВ, сильно отличаются от экзосом по липидному составу, особенно по содержанию холестерина. Продуцирование экзосом клетками *in vitro* связано с синтезом холестерина в клетках и супрессируется регуляторами синтеза мевалоната – промежуточного продукта метаболизма холестерина. Кроме того, в работе показано, что концентрация ВВ в организме сильно коррелирует с концентрацией холестерина в плазме, но слабо коррелирует концентрацией холестерина в липопротеинах. Это свидетельствует, о том, что не весь холестерин в плазме связан с липопротеинами, как считалось до настоящего момента.

Таким образом, экзомы не являются продуктом клеточной гибели и играют существенную роль в транспорте холестерина в плазме крови.

1. Filatov M.V., Landa S.B., Pantina R.A., Garmai Iu.P. Investigation of exosomes secreted by different normal and malignant cells *in vitro* and *in vivo* // Klin. Lab. Diagn., 2010, vol. 12, pp. 35-43.

2. Zhang H., Freitas D., Kim H.S. et al. Identification of distinct nanoparticles and subsets of extracellular vesicles by asymmetric flow field-flow fractionation // Nat. Cell Biol., 2018, vol. 20, pp. 332-343. doi: 10.1038/s41556-018-0040-4

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA*, ШТАММ IBSS-2

Molecular Genetic Analysis of *Dunaliella Salina*, Strain IBSS-2

Лантушенко А.О.¹, Шаповалова В.Е.¹, Дегтяр И.В.¹, Синченко А.В.¹, Боровков А.Б.²

¹ Севастопольский государственный университет", г. Севастополь, РФ, lantushenko@mail.ru

² ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Dunaliella salina – микроскопическая водоросль, развивающаяся в гипергалинных водоемах и широко распространенная в гиперсоленых озерах степного Крыма. В массовом количестве она вызывает красное «цветение», особенно яркое в период летнего испарения воды из мелководных лагун [1]. *Dunaliella salina* известна своими антиоксидантными свойствами, благодаря способности к выработке каротина в больших количествах, который широко используется в производстве косметики и биологически активных добавок. Это один из немногих организмов, способных выживать в таких экстремальных условиях, как высыхающие солёные пруды. Существовать в таких условиях им позволяет высокая концентрация β-каротина и глицерола, выполняющих протекторные функции. Высокое накопление этих биологически активных веществ обуславливает перспективность использования *D. salina* в биотехнологии [2].

В экспериментах использовали культуру микроводоросли *Dunaliella salina* штамм IBSS-2 из ЦКП "Коллекция гидробионтов Мирового океана" ФИЦ ИнБИОМ.

Для уточнения таксономического статуса используемой в эксперименте культуры был проведен филогенетический анализ с использованием внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) – это спейсерная ДНК, расположенная между генами малой субъединицы рибосомальной РНК (рРНК) и большой субъединицы рРНК в хромосоме или соответствующей транскрибируемой областью в полицистронном транскрипте предшественника рРНК [3]. Исследования проводились в ЦКП «Молекулярная структура вещества» СевГУ.

Выделение ДНК осуществляли с помощью набора реактивов ДНК-Экстран 2 (Синтол, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Для количественного определения полученной геномной ДНК использовали нанофотометр Inplen (Германия). ПЦР реакцию проводили с использованием пары праймеров ITS(F)-ITS(R) [4]. Ампликоны визуализировали с помощью гель-электрофореза в 1%-агарозном геле. Секвенирование полученных фрагментов осуществлялось на секвенаторе НАНОФОР-05 (Синтол, Россия), длина последовательности составила 678 н.п.

Полученную последовательность гена рРНК первоначально сравнили с последовательностями, доступными в базе данных Национального Центра биотехнологической информации (NCBI), используя алгоритм BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Филогенетический анализ проводили в программе MEGA X [5] и MrBayes [6]. Фильтрация выравнивания перед построением дерева осуществлялась вручную в программе Bioedit. Была определена наиболее подходящая модель эволюции нуклеотидов – параметрическая модель Kimura 2. Для реконструкции филогенетического дерева применяли методы максимального правдоподобия и Байеса. Достоверность установленной топологии проверяли при помощи bootstrap-анализа (1 000 итераций). В качестве внешней группы использовали последовательности *Yamagishiella unicocca* strain UTEX2431 (код Генбанка AF375785.1) и *Chlamydomonas reinhardtii* (AB511842.1).

Филогенетический анализ показал, что исследованный штамм *D. salina* IBSS-2 вместе с *D. salina* CCAAP 19/31 образует кладу с группой, в которую входят также и другие виды *Dunaliella*, однако имеющие идентичные ITS последовательности. Комплексное рассмотрение морфологических, физиологических и молекулярно-генетических характеристик позволяет отнести исследованный изолят к виду *Dunaliella salina*.

Работа выполнена в рамках внутреннего гранта СевГУ на 2021 г. «Изучение молекулярно-генетических механизмов увеличения продуктивности промышленно значимых культур», идентификатор 30/06-31.

1. Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. К.: Наукова думка, 1973, 244 с.

2. Масюк Н.П., Радченко М.И. Количественное содержание пигментов в клетках некоторых видов *Dunaliella salina* Teod. в условиях благоприятных для размножения // Гидробиол. журн., 1971, т. 7, № 6, с. 31-40.

3. Lafontaine D.L.J., Tollervey D. The function and synthesis of ribosomes // Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2001, vol. 2, no. 7, pp. 514-520.

4. Assunção P. et al. Molecular taxonomy of *Dunaliella* (Chlorophyceae), with a special focus on *D. salina*: ITS2 sequences revisited with an extensive geographical sampling // Aquatic biosystems, 2012, vol. 8, no. 1, pp. 1-11.

5. Kumar S., Stecher G., Li M. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms // Molecular Biology and Evolution, 2018, vol. 35, pp. 1547-1549.

6. Ronquist F. et al. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space // Syst. Biol., 2012, vol. 61 (3), pp. 539-542. doi: 10.1093/sysbio/sys029

ИССЛЕДОВАНИЕ РНК-ШАПЕРОННЫХ СВОЙСТВ БЕЛКА PROQ ИЗ *ESCHERICHIA COLI* Investigation of RNA Chaperone Activity of the *E. Coli* Protein ProQ

Леконцева Н.В., Буюклян Ю.А., Балобанов В.А., Михайлина А.О., Никулин А.Д.
Институт белка РАН, г. Пушино, РФ, natalja-lekontseva@rambler.ru

У бактерий малые регуляторные РНК действуют на посттранскрипционном уровне, контролируя физиологию, развитие и вирулентность бактерий. Они выполняют свои функции путем комплементарного взаимодействия с целевыми мРНК. Для поддержания стабильности и правильного функционирования мРНК часто необходимы специализированные РНК-связывающие белки, так называемые «РНК-шапероны». Долгое время единственным известным РНК-шапероном являлся белок Hfq. Однако исследования последних шести лет показали, что белки, содержащие домен ProQ/FinO, можно выделить в еще один класс регуляторов взаимодействия мРНК с РНК.

Ранее нами было показано, что EcoProQ специфически связывает мРНК 3'ETS (LeuZ). Данная мРНК представляет собой внешнюю транскрибируемую спейсерную последовательность предшественника лейциновой тРНК. Она функционирует как «молекулярная ловушка» или «губка», специфически связываясь с двумя мРНК, RyhV и RybV, тем самым предотвращая их взаимодействие со своими обычными партнерами. Известно, что RyhV и RybV являются Hfq-зависимыми мРНК, однако для RybV было показано, что ProQ также может связывать эту мРНК и конкурировать с Hfq, блокируя Hfq-опосредованную регуляцию. В связи с этим возникает вопрос, являются ли RyhV и RybV также ProQ-зависимыми мРНК и действует ли ProQ как РНК-шаперон, способствуя взаимодействию 3'ETS (LeuZ) с RyhV и RybV.

В рамках данной работы было определено, что малые регуляторные РНК RybV и RyhV специфично связываются с белком ProQ и формируют стабильный комплекс. Также было показано, что белок ProQ способен связывать дуплексы 3'ETS (LeuZ):RybV и 3'ETS (LeuZ):RyhV и формировать стабильные комплексы. РНК-шаперонная активность белка ProQ была исследована с использованием флуоресцентно-меченой РНК 3'ETS (LeuZ). С помощью метода анизотропии флуоресценции было показано, что сначала белок формирует тройной комплекс, связывая обе исследуемые РНК, а затем освобождает сформированные дуплексы.

Работа поддержана граном РФ № 21-74-00086.

ОСОБЕННОСТИ РОСТА БАКТЕРИЙ *E. COLI* В ПРИСУТСТВИИ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА И МАГНИЯ ²⁵Mg

Growth Characteristics of *E. coli* Bacteria in the Presence of Levofloxacin and Magnesium ²⁵Mg

Летута У.Г.

Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, РФ, shevulyana@yandex.ru

Магнитный изотоп магния ²⁵Mg, отличающийся от других стабильных изотопов ²⁴Mg, ²⁶Mg наличием ядерного магнитного момента и спина I=5/2, продемонстрировал необычное влияние на внутриклеточные ферментативные процессы [1] и, как следствие, на ростовые и физиологические показатели бактерий *E. coli* [2]. Обогащение микробов магнитным магнием повышает их витальность, изменяет биохимический состав и влияет на важнейшие бактериальные свойства – резистентность к антибиотикам и образование биопленок [2]. Весьма интересным представляется эффект синергизма магнитного изотопа магния и антибиотиков из группы хинолонов/ фторхинолонов, обнаруженный для клеток *E. coli*. Чувствительность бактерий к налидиксовой кислоте и ципрофлоксацину, определяемая как зона подавления роста, была выше в случае, если микроорганизмы культивировались в присутствии магнитного изотопа ²⁵Mg [3]. Магний ²⁵Mg потенцирует антибиотик, усиливает его антимикробную активность, влияя на синтез ДНК.

Фторхинолоны ингибируют репликацию и транскрипцию ДНК бактериальных клеток посредством связывания с субъединицей А ДНК-гиразы (для грамотрицательных бактерий) или топоизомеразой IV, приводя к гибели бактериальных клеток. Из всех фторхинолонов особого внимания заслуживает представитель III поколения – левофлоксацин. Это левый изомер офлоксацина, отличающийся повышенной антибактериальной активностью по сравнению с другими фторхинолонами. В данной работе проведено экспериментальное исследование совместного влияния левофлоксацина и изотопов магния на бактерии *E. coli* в процессе роста. Бактерии выращивались в синтетических питательных средах M9, содержащих изотопы магния и левофлоксацин. Исследовались ростовые показатели с помощью турбидиметрического метода получения ростовых кривых и морфология бактерий с помощью атомно-силовой микроскопии.

Обнаружен совместный эффект магнитного изотопа магния ²⁵Mg и левофлоксацина, заключающийся в значительном подавлении роста бактерий *E. coli*. Константа скорости роста и средняя достигаемая плотность бактериальной культуры, выращенной на среде с магнитным изотопом ²⁵Mg, уменьшается в 3–4 раза по сравнению с бактериями, выращенными на средах с немагнитными изотопами ^{24,26}Mg и природным магнием Mg. Значительные изменения в морфологии таких клеток подтверждают совместное негативное влияние ²⁵Mg и

левофлоксацина на бактерии *E. coli*. Полученные результаты имеет огромную терапевтическую значимость и свидетельствует о магнитной чувствительности ДНК-синтезирующих систем *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ № СП-225.2019.4; Министерства науки и высшего образования РФ, проект № FSGU-2020-0003.

1. Buchachenko A. Magnetic isotope effect in chemistry and biochemistry. New York: Nova Science Publishers, 2009.
2. Letuta U.G. Magnesium magnetic isotope effects in microbiology // *Archives of Microbiology*, 2021. Published 21 February 2021. doi: 10.1007/s00203-021-02219-4
3. Letuta U.G., Vekker A.S., Kornilova T.A. et al. Magnetic isotope effect of magnesium ^{25}Mg on *E. coli* resistance to antibiotics // *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2016, vol. 469, no. 1, pp. 281-283. doi: 10.1134/S1607672916040128

ОБРАЗОВАНИЕ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В КЛЕТКАХ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА ПОД ДЕЙСТВИЕМ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИГИДРИТА ROS Generation at Ferrihydrite Nanoparticles Effect in Ehrlich's Ascitic Carcinoma Cells

Лисак С.В., Крюкова О.В., Тарских С.В., Макарская Г.В.

Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН»,
Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, sofkaliss@yandex.ru

В последние годы одной из динамично развивающихся областей исследований являются нанотехнологии, поскольку носят междисциплинарный характер исследований, имеют широкий диапазон разработок, интеграцию материалов, методов и процессов из различных областей знаний. Наночастицы на основе оксидов железа за счет магнитных свойств широко применяются в биологии и медицине (например, магнитное нацеливание, магнитно-резонансная томография, магнитная гипертермия и т.д.). В микросреде опухоли наночастицы на основе железа могут активировать образование высокореакционноспособных свободных радикалов. Изменение окислительно-восстановительного состояния впоследствии влияет на выживание опухолевых клеток, инвазию и метастазирование [1,2].

Важным параметром магнитных наночастиц на основе оксидов железа являются биосовместимость и низкая токсичность. Это обеспечивается использованием в процессе получения полисахаридов, в частности арабиногалактана.

Цель работы – оценить продукцию активных форм кислорода клетками асцитной карциномой Эрлиха при инкубации с наночастицами ферригидрита, покрытых арабиногалактаном.

В работе использовали лабораторных мышей аутбредной популяции ICR с привитой экспериментальной опухолью – асцитной карциномой Эрлиха (АКЭ). Суспензию АКЭ извлекали из перитонеальной полости животных в стационарной фазе роста (10 сутки) и делили на группы: 1 – контроль, 2 – инкубация АКЭ с арабиногалактаном, 3 – инкубация с наночастицами ферригидрита.

Наночастицы ферригидрита получали методом химического осаждения в присутствии раствора гидроксида аммония при ультразвуковой кавитации. Средний размер частиц составлял 2 нм [3].

Образование активных форм кислорода (АФК), регистрировали методом хемилюминесценции с использованием аппаратно-программного комплекса «Хемилюминометр CL-3604» – ПЭВМ (СКТБ «Наука», Красноярск). В качестве зондов использовали люминол и люцигенин. Время записи хемилюминесцентной кривой составляло 90 минут при температуре в регистрационной камере +37С [4]. О кинетике генерации АФК судили по параметрам хемилюминесцентной кривой, принимая во внимание наиболее информативные: амплитуду максимальной активности хемилюминесцентной реакции и площадь под кривой, определяющей общее количество АФК, генерируемых клетками за время записи хемилюминесцентной кривой.

По изменению интенсивности спонтанной хемилюминесценции клеточных суспензий можно судить о быстропротекающих сдвигах равновесия про- и антиоксидантной систем, оценивать их направление без учета поведения компонентов равновесия и скорость процессов образования активных форм кислорода.

В ходе работы было получено, что в процессе инкубации клеток АКЭ с наночастицами ферригидрита, покрытых арабиногалактаном, происходит снижение продукции как первичных, так и вторичных свободных радикалов. Эти данные согласуются с результатами работы [5]. Однако, сам по себе арабиногалактан проявлял прооксидантные свойства, т.е. при спонтанной люминол-зависимой реакции происходит увеличение значения максимума хемилюминесценции и общего количества АФК относительно контроля при воздействии арабиногалактана на клетки АКЭ.

1. Ayyanaar S., Kesavan M.P., Balachandran C. et al. Iron oxide nanoparticle core-shell magnetic microspheres: Applications toward targeted drug delivery // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2020, vol. 24, p. 102134.

2. Chen J., Lei S., Zeng K. et al. Catalase-imprinted Fe₃O₄@ fibrous SiO₂/polydopamine nanoparticles: An integrated nanoplatform of magnetic targeting, magnetic resonance imaging, and dual-mode cancer therapy // *Nano Research*, 2017, vol. 10 (7), pp. 2351-2363.
3. Knyazev Y.V., Balaev D.A., Stolyar S.V. et al. Magnetic anisotropy and core-shell structure origin of the biogenic ferrihydrite nanoparticles // *Journal of Alloys and Compounds*, 2021, vol. 851, p. 156753.
4. Makarskaya G.V., Tarskikh S.V., Turitsyna E.G. Luminol-and lucigenin-dependent chemiluminescence of chicken whole-blood cells during postnatal ontogeny // *Russian agricultural sciences*, 2011, vol. 37 (3), pp. 254-257.
5. Коленчукова О.А., Столяр С.В., Ладыгина В.П., Бирюкова Е.А. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов при воздействии магнитных наночастиц ферригидрита (*in vitro*) // *Медицинская иммунология*, 2020, т. 22 (3).

STRUCTURAL INSTABILITY OF THE UPPER SURFACE OF THE FIBRINOGEN MULTILAYER CONTRIBUTES TO ITS NONADHESIVE PROPERTIES

Lishko V.K., Ugarova T.P.

School of Life Sciences, Arizona State University, USA, valeryi.lishko@asu.edu

We have previously shown that adsorption of the blood protein fibrinogen on various surfaces, including thrombi and implanted biomaterials dramatically reduces adhesion of platelets and leukocytes and proposed that this process may prevent an uncontrolled thrombus expansion. We further demonstrated that the mechanism by which fibrinogen renders surfaces nonadhesive is its surface-induced self-assembly leading to the formation of a nanoscale multilayer matrix. Under the applied tensile force exerted by cellular integrins, the fibrinogen matrix extends as a result of the separation of layers which prevents transduction of strong mechanical forces, resulting in weak intracellular signaling and feeble cell adhesion. However, additional processes may contribute to the anti-adhesive mechanism. In particular, the structural instability of the superficial layers of the multilayer matrix arising from a weak association between fibrinogen molecules may allow integrins and other cellular structures to pull fibrinogen molecules out of the matrix. In the present study, using several experimental flow systems, we demonstrated that blood cells including platelets, monocytes and neutrophils expressing different fibrinogen receptors as well as model HEK293 cells expressing the fibrinogen receptor integrin Mac-1 removed ¹²⁵I-labeled fibrinogen deposited in the fibrinogen matrix. This process was dependent on shearing force, time and the cell concentration. Furthermore, even erythrocytes that do not have fibrinogen receptors also dissociated fibrinogen multilayer, suggesting that this phenomenon is not receptor-dependent. These results indicate that the peeling effect exerted by flowing cells upon their contact with the fibrinogen multilayer is involved in the anti-adhesive mechanism.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИАМИНОВ НА ОБРАЗОВАНИЕ МЕТГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ *IN VITRO*

Polyamines Effect on the Methemoglobin Formation in the Blood of Patients with Parkinson's Disease Under Oxidative Stress Conditions *in vitro*

Маклецова М.Г.¹, Рихирева Г.Т.², Вакуленко М.Ю.¹, Грякалов К.В.², Уразгильдеева Г.Р.³

¹ Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, mgm52@bk.ru

² Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва, РФ, grikhireva@bk.ru

³ Научный центр неврологии, г. Москва, РФ

Болезнь Паркинсона (БП) – возраст-зависимое нейродегенеративное заболевание, которое характеризуется потерей дофаминергических нейронов и аномальным накоплением железа в субстанции nigra. Особое внимание исследователей молекулярно-клеточных механизмов нейродегенеративных заболеваний уделяется оценке уровня окислительного стресса (ОС), который развивается при дисбалансе между патологическим избыточным накоплением АФК и дефицитом антиоксидантных систем. В последнее время активно изучается роль MetHb в развитии ОС, обсуждается возможность использования определения содержания MetHb как маркера ОС.

С целью изучения дозозависимого влияния ДОФА на образование MetHb в условиях ОС с оценкой эффективности коррекции данного процесса антиоксидантами нами проведено исследование в опытах *in vitro*.

Определение содержания MetHb в эритроцитарной массе крови пациентов с БП проводили с помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) по интенсивности сигнала ЭПР с g-фактором в области 6.0. Спектр ЭПР измеряли при 77 К на радиоспектрометре ER-220 D фирмы Bruker (Германия) с использованием стандартной методики накопления и анализа спектров ЭПР на мини ЭВМ Аспект-2000. В модельных опытах образование MetHb индуцировали акролеином и/или ДОФА. В качестве протектора использовали природные антиоксиданты – спермин и спермидин.

При инкубации эритроцитарной массы, полученной из крови пациентов с БП, с 1,5 мМ ДОФА не наблюдалось изменений в содержании MetHb по сравнению с исходным уровнем, однако при увеличении дозы ДОФА в 10 раз (15 мМ) происходило увеличение содержания MetHb в 2 раза ($p \leq 0,01$) по сравнению с исходным уровнем. Введение в инкубационную среду акролеина (100 мкМ инкубация 1 ч) приводило к увеличению образования MetHb в 3 раза ($p \leq 0,001$) относительно контроля, а сочетание ДОФА и акролеина вызывало 10-ти кратное увеличение ($p \leq 0,001$) содержания MetHb.

Введение в инкубационную среду спермина или спермидина предотвращало избыточное образование MetHb, индуцированное акролеином. Спермин оказывал положительное влияние на ДОФА-индуцированное образование MetHb, нормализуя его содержание, а спермидин нет. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности определения содержания MetHb в крови пациентов с БП в условиях длительного приема ДОФА-содержащих препаратов для прогнозирования риска развития осложнений, связанных с метгемоглобинемией. Показана эффективность введения антиоксидантов в базовую терапию БП. Эти данные представляют интерес с точки зрения развивающихся в последнее время представлений о возможном использовании полиаминов в терапии возрастных изменений для предотвращения когнитивных нарушений.

ОЗОНИРОВАННОЕ ОКИСЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Ozone Oxidation of Nucleic Bases in Aqueous Solutions

Максютова А.А., Баймурзина З.Д., Зимин Ю.С.

Башкирский государственный университет, г. Уфа, РФ, *ajm-ajms@mail.ru*

Известно, что важная роль в живом организме отведена нуклеиновым основаниям – главным строительным звеньям РНК и ДНК. Различные виды нарушений целостности структур цепей РНК и ДНК приводят к тяжелейшим формам генетических заболеваний и преждевременному старению организма. Одной из основных причин разрушения цепей нуклеиновых кислот считается деградация мономеров под действием окислителей. Изучение кинетики и механизмов окислительной деградации РНК и ДНК и поиск путей ее устранения считается актуальной задачей, при этом самой используемой модельной реакцией является окисление нуклеиновых оснований (NB). Озон в последние десятилетия приобрел огромную популярность в общей терапии болезней и косметологии. Появился даже термин «озонотерапия». В то же время количественные данные по взаимодействию озона с азотистыми основаниями крайне ограничены (имеются лишь единичные работы [1, 2]).

В этой связи целью настоящей работы явилось изучение кинетики озонированного окисления нуклеиновых оснований (аденина, тимина, урацила и цитозина) в водных растворах. Исследования проводили методом УФ-спектроскопии на приборе UV-2600 фирмы «Shimadzu» при равенстве начальных концентраций реагентов ($[NB]_0 = [O_3]_0 = C_0$). Установлено, что кинетические кривые уменьшения концентрации C реагирующих веществ хорошо линеаризуются в координатах уравнения реакции второго порядка:

$$1/C = 1/C_0 + k \cdot t,$$

где k – константа скорости реакции озона с NB, л/(моль · с). Опытами на барботажной установке установлено, что на 1 моль израсходованного нуклеинового основания приходится 1 моль поглощенного озона. Из полученных данных следует, что реакции нуклеиновых оснований с озоном подчиняется кинетическому закону второго порядка:

$$V = -dC/dt = k [NB] [O_3].$$

В настоящей работе изучено влияние температуры на константы скорости реакций второго порядка (таблица 1).

Таблица 1. Температурные зависимости констант скорости реакций озона с нуклеиновыми основаниями в водных растворах

Нуклеиновое основание	$k \cdot 10^{-1}$, л/(моль · с)*						
	285 К	289 К	293 К	297 К	301 К	305 К	309 К
Аденин	0,7	0,9	1,5	2,1	3,1	4,0	5,4
Тимин	0,7	0,8	0,9	1,1	1,2	1,3	1,5
Урацил	4,5	5,7	6,6	7,8	8,5	11,4	12,1
Цитозин	2,1	2,7	3,6	4,4	6,0	8,5	11,1

* Погрешность определения k не превышала 10%.

Довольно большие значения констант скоростей второго порядка свидетельствуют о высокой реакционной способности O_3 к нуклеиновым основаниям. Обработка температурных зависимостей k в координатах уравнения Аррениуса позволила определить активационные параметры изученных реакций ($R = 8,314$ Дж/(моль · К)):

$$\lg k = (11,7 \pm 1,7) - (59,1 \pm 2,6) / 2,303RT \text{ (O}_3 \text{ + аденин),}$$

$$\lg k = (5,1 \pm 0,5) - (23,2 \pm 2,8) / 2,303RT \text{ (O}_3 \text{ + тимин),}$$

$$\lg k = (7,4 \pm 0,6) - (30,3 \pm 4,2) / 2,303RT \text{ (O}_3 \text{ + урацил),}$$

$$\lg k = (10,3 \pm 1,3) - (50,7 \pm 3,6) / 2,303RT \text{ (O}_3 \text{ + цитозин).}$$

Согласно результатам настоящей работы, реакционная способность нуклеиновых оснований по отношению к озону (293 К) изменяется в следующем ряду: тимин < аденин < цитозин < урацил. Таким образом, тимин оказался наименее реакционноспособным в ряду изученных оснований.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ (проект № 19-73-20073).

1. Максютова А.А., Зимин Ю.С., Гимадиева А.Р., Мустафин А.Г. Кинетика окисления урацила и его производных озонем в водных растворах // Ж. физ. химии, 2019, т. 93, № 9, с. 1322-1327.

2. Максютова А.А., Моисеева Е.Д., Зимин Ю.С., Мустафин А.Г. Кинетика и активационные параметры реакций озона с 5-фторурацилом и 5-гидрокси-6-метилурацилом // Вестн. БашГУ, 2020, т. 25, № 2, с. 302-307.

ИНГИБИТОР ЦИКЛООКСИГЕНАЗ ДИКЛОФЕНАК ПОДАВЛЯЕТ ТРАНСПОРТ Na⁺ В ЭПИТЕЛИИ КОЖИ ЛЯГУШКИ

Cyclooxygenase Inhibitor Diclofenac Attenuates Na⁺ Transport in Frog Skin Epithelium

Мельницкая А.В.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, *avmelnitskaya@yandex.ru*

² Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, РФ

Кожа амфибий и другие изолированные эпителиальные системы являются классическими модельными объектами для исследования механизмов трансэпителиального транспорта ионов. По способности к транспорту электролитов и реакции на некоторые гормоны кожа и мочевой пузырь амфибий сходны с дистальными отделами почечных канальцев [1], что позволяет использовать данные, получаемые на этих объектах, для выяснения механизмов транспорта воды и ионов в клетках почки.

Известно, что арахидоновая кислота (АК) и ее производные являются важными сигнальными молекулами, выступающими в качестве местных гормонов и медиаторов, играющих важную роль в регуляции различных физиологических и патофизиологических процессов [2]. В почках и других реабсорбирующих эпителиях, в том числе в эпителии кожи лягушки, АК и ее производные (преимущественно продукты циклооксигеназного пути окисления АК – простагландины) участвуют в регуляции транспорта ионов и воды [3]. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать влияние ингибитора циклооксигеназ – диклофенака, широко применяющегося в клинической практике в качестве нестероидного противовоспалительного средства.

Эксперименты проводили на самцах лягушки *Rana temporaria* в период с ноября по март. Кожу с брюшка лягушки срезают и помещают в камеру Уссинга («World Precision Instruments, Inc.», Германия) с диаметром внутреннего отверстия 12 мм. Для измерения электрических параметров кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала и регистрации вольт-амперных характеристик (ВАХ). В интервалах между измерениями ВАХ трансэпителиальный потенциал (V_T) кожи поддерживали при 0 мВ (режим короткого замыкания) или 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 Na⁺ оценивали как амилоридчувствительный I_{SC} .

Значения электрических характеристик кожи лягушки в контроле в среднем (по данным 10 экспериментов) составляют: $I_{SC} = 15,65 \pm 2,35$ мкА; $V_{OC} = -30,39 \pm 5,36$ мВ; $g_T = 0,51 \pm 0,08$ мСм. Впервые показано, что диклофенак подавляет транспорт Na⁺ в коже лягушки. В среднем, после обработки апикальной поверхности кожи лягушки диклофенаком (25 мкг/мл) в течение 70 ± 10 мин I_{SC} уменьшается на $23,25 \pm 4,45$ %, V_{OC} уменьшается на $10,45 \pm 2,12$ %, а g_T уменьшается на $14,99 \pm 2,08$ % ($M \pm m$, n (число опытов) = 10). Полученные результаты согласуются с данными литературы. Так, в культуре клеток кортикальных собирательных трубочек почки мыши показано, что ингибиторы циклооксигеназ диклофенак и ибупрофен подавляют транспорт Na⁺ [4]. Результаты, представленные в настоящей работе, согласуются также с данными, полученными нами ранее при сравнительном исследовании влияния на транспорт Na⁺ в коже лягушки структурно различных ингибиторов циклооксигеназ. Ранее нами было показано, что обработка кожи мелоксикамом, индометацином или ацетилсалициловой кислотой (аспирином) существенно снижает базальный уровень транспорта Na⁺ в эпителии кожи лягушки [5].

Таким образом, результаты, полученные нами в настоящей работе и ранее, свидетельствуют об участии циклооксигеназ и/или продуктов циклооксигеназного пути окисления АК в регуляции транспорта Na⁺ в эпителии кожи лягушки.

1. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. Л.: Наука, 1982, 184 с.

2. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С. Механизмы внутриклеточной сигнализации. СПб.: Изд. СПбГУ, 2003, 208 с.
3. Els W.J., Helman S.H. Dual role of prostaglandins (PGE₂) in regulation of channel density and open probability of epithelial Na⁺ channels in frog skin (*R. pipiens*) // *J. Membr. Biol.*, 1997, vol. 155, pp. 75-87.
4. Pavlov T.S., Platovskaya D., Levchenko V. et al. Effects of cytochrome P-450 metabolites of arachidonic acid on the epithelial sodium channel (ENaC) // *Am. J. Physiol.*, 2011, vol. 301, pp. F672-F681.
5. Melnitskaya A.V., Krutetskaya Z.I., Butov S.N. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory analgesic meloxicam modulates the effect of glutoxim on Na⁺ transport in frog skin. In: «Translation approaches to cause-oriented treatment of pain symptoms», St. Petersburg, 2012, pp. 20-21.

ЛИПОКСИГЕНАЗЫ УЧАСТВУЮТ В РЕГУЛЯЦИИ Ca²⁺-ОТВЕТОВ, ИНДУЦИРУЕМЫХ ТРИФЛУОПЕРАЗИНОМ В ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГАХ

Lipoxygenases are Involved in Regulation of Ca²⁺ Responses Induced by Trifluoperazine in Peritoneal Macrophages

Миленина Л.С.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹, Симонян А.О.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ

² Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, РФ

l.milenina@spbu.ru, z.krutetskaya@spbu.ru;

Нейролептик первого поколения трифлуоперазин (трифтазин, ТФП), широко применяемый в терапии шизофрении и других психических заболеваний, оказывает многогранное влияние на внутриклеточные процессы [1]. Так, ранее нами было показано, что ТФП вызывает увеличение внутриклеточной концентрации Ca²⁺, [Ca²⁺]_i, в перитонеальных макрофагах крысы, связанное с мобилизацией Ca²⁺ из внутриклеточных Ca²⁺-депо и последующим депозависимым входом Ca²⁺ из наружной среды [2]. Однако, механизмы, посредством которых ТФП вызывает Ca²⁺-ответы в макрофагах, до конца не изучены.

В активации и функционировании иммунных клеток, в том числе макрофагов, важную роль играет каскад метаболизма полиненасыщенной арахидоновой кислоты (АК). В макрофагах АК окисляется преимущественно с участием циклооксигеназ и липоксигеназ [3]. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать участие липоксигеназного пути окисления АК во влиянии нейролептика фенотиазинового ряда ТФП на [Ca²⁺]_i в перитонеальных макрофагах крысы. В экспериментах использовали селективные ингибиторы 5-липоксигеназ кофеиновую кислоту и противоастматический агент zileuton, селективный ингибитор 12/15-липоксигеназ флавоноид байкалейн, а также неселективный ингибитор всех изоформ липоксигеназ (5-, 12- и 15-липоксигеназ) нордигидрогуаретиковую кислоту (НДГК).

С использованием флуоресцентного Ca²⁺-зонда Fura-2AM в контрольных экспериментах мы обнаружили, что добавление 4 мкг/мл ТФП к макрофагам, находящимся в нормальном физиологическом растворе, приводит к быстрому повышению [Ca²⁺]_i от базального уровня, равного 92±17 нМ, до 221±25 нМ (n=14), после чего наблюдается длительная фаза «плато» Ca²⁺-ответа, отражающая депозависимый вход Ca²⁺ в клетки. Показано, что преинкубация макрофагов с 10 мкМ кофеиновой кислоты в течение 5 мин до введения 4 мкг/мл ТФП приводит к существенному (на 61,4±14,2 %, n=7) подавлению Ca²⁺-ответов, вызываемых ТФП. Аналогичные результаты были получены при использовании 2 мкМ zileutona или 10 мкМ байкалейна. Подавление Ca²⁺-ответов, вызываемых ТФП, при воздействии zileutona составило 34,6 ± 10,5 % (n=7), а при воздействии байкалейна – 58,8 ± 7,6 % (n=6). Обнаружено также, что введение 20 мкМ кофеиновой кислоты, 4 мкМ zileutona или 20 мкМ байкалейна на фоне развившегося плато Ca²⁺-ответа, индуцированного ТФП, вызывает уменьшение [Ca²⁺]_i на 46,3 ± 12,4, 33,5 ± 8,2 или 52,9 ± 3,0 % соответственно (n=7 для каждого из агентов).

Представлялось интересным исследовать влияние на Ca²⁺-ответы, вызываемые ТФП, НДГК, которая ингибирует все изоформы липоксигеназ. Показано, что введение 30 мкМ НДГК на фоне развившегося плато Ca²⁺-ответа, индуцированного ТФП, приводит к практически полному (на 76,9 ± 8,9 %, n=7) подавлению фазы плато и возвращению [Ca²⁺]_i к базальному уровню. Обнаружено также, что преинкубация макрофагов с 20 мкМ НДГК в течение 5 мин до введения 4 мкг/мл ТФП приводит к полному подавлению фазы плато Ca²⁺-ответа, обусловленной депозависимым входом Ca²⁺ из наружной среды, и уменьшению (на 58,9 ± 8,0 %, n=7) амплитуды пика Ca²⁺-ответа, отражающего мобилизацию Ca²⁺ из депо.

Полученные нами результаты свидетельствуют об участии 5- и 12/15- липоксигеназ и/или продуктов окисления АК с участием этих ферментов во влиянии ТФП на [Ca²⁺]_i в макрофагах. Участие ферментов каскада метаболизма АК во влиянии ТФП на [Ca²⁺]_i может быть объяснено моделью встраивания амфифильных антипсихотических агентов, в том числе фенотиазиновых нейролептиков, во внутренний монослой мембраны, в котором локализованы анионные фосфолипиды [4]. Это может приводить к изменению жидкостиности мембраны и функционирования мембраносвязанных ферментов, таких как фосфолипаза A₂, запускающая каскад метаболизма АК. В свою очередь, ферменты и/или продукты метаболизма АК участвуют в формировании Ca²⁺-ответов, вызываемых ТФП.

1. Sudeshna G., Parimal K. Multiple non-psychiatric effects of phenothiazines: a review // *Europ. J. Pharmacol.*, 2010, vol. 648, pp. 6-14. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.08.045
2. Milenina L.S., Krutetskaya Z.I., Naumova A.A. et al. Arachidonic acid metabolism inhibitors attenuate Ca²⁺ responses induced by trifluoperazine in macrophages // *Cell Tissue Biol.*, 2018, vol. 12, no. 4, pp. 315-322.
3. Needleman P., Turk J., Jacksick B.A. et al. Arachidonic acid metabolism // *Annu. Rev. Biochem.*, 1986, vol. 55, pp. 69-102.
4. Oruch R., Lund A., Pryme I.F., Holmsen H. An intercalation mechanism as a mode of action exerted by psychotropic drugs: results of altered phospholipid substrate availabilities in membranes? // *J. Chem. Biol.*, 2010, vol. 3, pp. 67-88.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ АОРТОКОРОНАРНОЕ ШУНТИРОВАНИЕ

Assessment of the Condition of Patients Who Have Undergone Coronary Artery Bypass Grafting

Милютин Н.П.¹, Сидоров Р.В.², Долгмурзиева Н.С.², Ананян А.А.¹, Внуков В.В.¹

¹ Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, г. Ростов-на-Дону, РФ

² Ростовский государственный медицинский университет, г. Ростов-на-Дону, РФ, npmilutina@sfnu.ru

Исследование посвящено двум взаимосвязанным кардиопатологиям - ишемической болезни сердца (ИБС) и постперикардитомному синдрому (ППКС), который часто сопровождает аортокоронарное шунтирование (АКШ). ППКС – это специфическая форма травматического перикардита, развивающаяся в рамках системной воспалительной реакции организма [1]. Необходимо отметить, что к настоящему моменту остаются не ясны многие патогенетические аспекты постперикардитомного синдрома, и не определен спектр маркеров его диагностики. Ранее [2-4] нами показано, что обе патологии развиваются на фоне окислительного стресса. Исследовали спектр, на наш взгляд информативных показателей – компонентов прооксидантно – антиоксидантной системы и предикторов постоперационных осложнений, способных диагностировать развитие ППКС.

Обследовано 76 пациентов с ИБС до операции АКШ и в послеоперационном периоде на 1, 3, 5, 7, 10 сутки и 10 доноров. В крови обследуемых определяли оксидазную активность церулоплазмينا, бета – адренореактивность организма по осморезистентности эритроцитов, активность глутатионпероксидазы в плазме крови и в эритроцитах, содержание глутатиона в эритроцитах. Измерения проводили на спектрофотометре Beckman Coulter DU – 800 (USA).

В крови больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование, интенсификация свободнорадикального окисления и накопление продуктов ПОЛ сопровождается нарушением стабильности эритроцитов и целостности эритроцитарных мембран. Система глутатиона и глутатион-зависимых ферментов занимают центральное место в антиоксидантной защите клеток. Содержание глутатиона у пациентов с ИБС выше, чем у доноров, как до операции, так и во все сроки послеоперационного периода. Следует отметить, что у пациентов с ППКС уровень глутатиона перед операцией выше, чем у пациентов без послеоперационных осложнений, что позволяет рекомендовать данный показатель в качестве предиктора ППКС. Активность глутатионпероксидазы в эритроцитах у пациентов до операции и во все сроки после операции ниже по сравнению с донорами. Отмечено, что в группе пациентов с ППКС по сравнению с группой пациентов без осложнений активность фермента возрастает через 3 суток после операции. Оксидазная активность церулоплазмينا у доноров выше, чем пациентов с ИБС, как до операции, так и во все сроки послеоперационного периода. Однако, установлено однократное повышение активности церулоплазмينا у пациентов с ППКС через 1 сутки после операции.

Таким образом, как свидетельствуют проведенные исследования, предложенные показатели являются информативными в оценке состояния пациентов с ИБС и в послеоперационном периоде после проведения АКШ. Кроме того, определение оксидазной активности церулоплазмينا и глутатионпероксидазы в плазме крови, содержание глутатиона в эритроцитах и уровень бета-адренореактивности можно использовать в качестве прогностических тестов риска развития ППКС

1. Игольникова Л.Н., Никулина Е.Г. Постперикардитомный синдром: клиничко-лабораторная диагностика, лечение (обзор литературы) // *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*, 2012, № 1, с. 42-46.

2. Внуков В.В., Сидоров Р.В., Милютин Н.П. и др. Роль свободнорадикальных и воспалительных процессов в развитии постперикардитомного синдрома у больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование // *Клиническая медицина*, 2016, т. 11, № 94, с. 827-831.

3. Внуков В.В., Сидоров Р.В., Милютин Н.П. и др. Показатели окислительно - нитрозильного стресса в крови и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2018, т. 3, № 2, с. 388-393.

4. Vnukov V.V., Sidorov R.V., Gvaldin D.Yu. et al. Role of Myeloperoxidase, Paraoxonase, and Nitric Oxide System in the Blood and Pericardial Fluid of Patients with Ischemic Heart Disease after Direct Myocardial Revascularization // *Advances in Gerontology*, 2019, vol. 9, no. 4, pp. 426-433.

**РОЛЬ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И ЦИНКА В ФОРМИРОВАНИИ КАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНОЙ
ФОРМЫ МЕТАЛЛОФЕРМЕНТА – L-АЛАНОИЛ-D-ГЛУТАМАТПЕПТИДАЗЫ
БАКТЕРИОФАГА T5 (EndoT5)**

**On the Roles of Calcium and Zinc Ions in the Formation of a Catalytically Active Form of the Metalloenzyme,
L-Alanyl-D-Glutamate Peptidase of the Bacteriophage T5 (EndoT5).**

Молочков Н.В.¹, Микулинская Г.В., Прохоров Д.А.¹, Егоров А.Е.¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, nmolochkov@gmail.com

² Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пущино, РФ

Эндолизин бактериофага T5 (EndoT5) является небольшой, 137-аминокислотной, цинксодержащей пептидазой семейства M15_3 [1], гидролизующей пептидогликан клеточной стенки хозяина бактериофага – *Escherichia coli*. Помимо фундаментального интереса к энзимологии неканонических пептидаз с 1, d-специфичностью, EndoT5 заслуживает внимания и как возможный кандидат при создании лекарственных препаратов для борьбы с грамотрицательными патогенами. Пространственная структура этого фермента в растворе установлена методом ЯМР высокого разрешения [2]. Показано, что EndoT5 - глобулярный белок, относящийся к $\alpha+\beta$ классу; молекула имеет гидрофобный кор, образованный тремя α -спиралями и четырьмя антипараллельными β -складками, образующими β -лист. Ион цинка в структуре фермента координирован консервативными аминокислотными остатками – H66, D73 и H133. Кроме ионов цинка, для проявления ферментативной активности EndoT5 необходимы также ионы кальция, которые могут быть замещены *in vitro* ионами марганца [3].

Приведены данные анализа структурных изменений при связывании ионов (регуляторного кальция и каталитического цинка) металлоферментом – l-аланоил-d-глутаматпептидазой бактериофага T5 (Endo T5) и некоторыми его аналогами, содержащими единичные аминокислотные замены в области активного центра, методами ядерного магнитного резонанса (ЯМР), кругового дихроизма (КД) и калориметрии. Показано, что белковая глобула нативного EndoT5, присоединяя ионы цинка, претерпевает сильные перестройки в структуре, довершает их присоединение ионов кальция, что приводит к образованию активного фермента.

Для аналогов EndoT5 с точечными заменами в кальцийсвязывающем сайте наблюдаются аналогичные конформационные перестройки при захвате иона цинка, однако характерных изменений в спектрах ЯМР, связанных с присоединением ионов кальция, не обнаружено. Обсуждается роль протонного обмена в процессе кальциевой активации ферментативной активности молекулы белка.

Полученные нами данные подтверждают, что кальций для EndoT5 служит структурным регулятором активности: при его связывании молекула фермента переходит в каталитически активную конформацию, способную обеспечить эффективный гидролиз пептидной связи субстрата. Данный механизм можно сравнить со способом, которым передается сигнал кальций-зависимыми белками-«сенсорами» - они также претерпевают конформационные изменения, в результате которых экспонируется часть молекулы, способная взаимодействовать с другими белками.

1. Mikoulinskaia G.V., Odinkova I.V., Zimin A.A., Stepnaya O.A. L-Alanoyl-D Glutamate Peptidase (Bacteriophage T5), Handbook of Proteolytic Enzymes, 3rd edn, 2013, vol. 1 and 2, pp. 1407-1410. doi: 10.1016/B978-0-12-382219-2.00316-1

2. Prokhorov D.A., Mikoulinskaia G.V., Molochkov N.V. et al. High-resolution NMR structure of a Zn²⁺-containing form of the bacteriophage T5 L-alanyl-D-glutamate peptidase // RSC Adv., 2015, vol. 5, pp. 41041-41049.

3. Mikoulinskaia G.V., Odinkova I.V., Zimin A.A. et al. Identification and characterization of the metal ion-dependent L-alanoyl-D- glutamate peptidase encoded by bacteriophage T5 // FEBS J., 2009, vol. 276, pp. 7329-7342.

ТРАНСМЕМБРАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ОНКОКЛЕТОК КУЛЬТУРЫ HELa В ПРОЦЕССЕ ЕЁ РАЗМОРАЖИВАНИЯ И ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ АДЕНОВИРУСОМ

Transmembrane Potentials and Energy Activity of HeLa Cancer Cells during its Defrosting and
After Infected with Adenovirus

Морозова Г.И.¹, Корнилаева Г.В.², Гринкевич О.М.², Аскарлова К.З.¹, Лопатина О.А.², Фирсова Е.Л.²

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва, РФ, *gimorozova@mail.ru*

² НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, г. Москва, РФ, *lopatina.online@yandex.ru*

Культура клеток линии карциномы шейки матки (HeLa) широко используется в модельных медико-биологических исследованиях для выявления физико-химических особенностей жизнедеятельности раковых клеток. Криоконсервация является необходимым моментом сохранения клеточной культуры. Эффективность де-консервации (размораживания) клеток определяется способностью восстановления исходных свойств клеток [1]. Ранее установлено, что клетки разных культур с исходно более высоким уровнем отрицательных трансмембранных потенциалов (ТМП) на внешней и митохондриальных мембранах способны сохранять достаточно высокую функциональную и пролиферативную активность после их размораживания [2]. С другой стороны, в последние годы возрос интерес к микробиологическим способам борьбы с онкологией. Некоторые патогенные вирусы специально вводят в опухолевые клетки с целью частичного изменения клеточного генома, что в свою очередь ведёт к изменению рецепторов на поверхности мембран, усилению атаки макрофагов и Т-лимфоцитов на опухоль [3]. В связи с этим целью данной работы является исследование ТМП и митохондриальной активности в клетках культуры HeLa [1] в процессе её размораживания и после инфицирования аденовирусом.

Для оценки этих цитофизических показателей использовали полихроматический флуоресцентный потенциал-чувствительный зонд-катион 4-*n*-диметиламностирил-1-метилпиридиний (ДСМ) в сочетании с разработанными ранее методиками [2,4,5]. Окрасивание клеток осуществляли путем добавления физиологического раствора зонда ДСМ к суспензиям клеток HeLa в эппендорфах до конечных его концентраций 2-5 мкМ и последующей инкубации этих клеток при температуре 37° с экспозицией 30 мин. Затем готовили витальные препараты с монослоем окрашенных клеток на стеклах, которые исследовали в свете флуоресценции ДСМ и флуорометрировали на базе люминесцентного микроскопа Люмам (ЛЮМО) как описано ранее в работах [2,5]. С целью выбора контрольных клеток в адекватном энергетическом состоянии клетки культуры исследовали через различные интервалы времени после их размораживания (3-24 ч).

В ходе исследований установлено, что флуоресценция ДСМ в цитоплазме клеток зависит от времени их культивирования в течение суток после размораживания. Экспериментальные оценки показали, что достаточно высокий уровень суммарного отрицательного ТМП порядка $|-150|$ мВ, сопряженный с энергизацией митохондрий, достигается через 6 ч, а максимумы ТМП $\geq |-200$ мВ, достигаются через 24 ч культивирования клеток. По изменению интенсивности и цвета флуоресценции ДСМ в размороженных клетках с аденовирусом выявлено снижение почти в 2 раза доли клеток с высокими ТМП и рост доли клеток с очень низкими ТМП на 34%, когда происходит резкое снижение количества активных ярких митохондрий, осмотическое нарушение структуры и ТМП внешней мембраны клеток. При этом в цитоплазме и в ядрах клеток, заражённых аденовирусом, появляются области с характерной диффузной жёлтой флуоресценцией ДСМ разной яркости, обусловленной прежде всего связыванием катионов ДСМ с доступными анионными группами полимеров в структуре вирусных скоплений. Таким образом, размножение аденовируса в клетках культуры HeLa, по-видимому, может приводить к изменению электрических свойств разных клеточных мембран и хроматина в ядрах, к дезэнергизации митохондрий, а в итоге к нарушению жизнеспособности онкоклеток.

1. Подчерняева Р.Я., Корнилаева Г.В., Морозова Г.И. Новый подход к методам крио и де-консервации для сохранения генофонда коллекции клеточных культур // Цитология, 2004, т. 46, № 9, с. 837.

2. Морозова Г. И., Корнилаева Г.В., Подчерняева Р.Я. и др. Исследование влияния КВЧ-излучения миллиметрового диапазона на мембранные структуры в культуре Т-лимфобластоидных клеток с помощью флуоресцентного зонда-катиона ДСМ // Биомедицинская радиоэлектроника, 2014, № 11, с. 31-38.

3. Разумов И.А., Святченко В.А. Протопопова Е.В. и др. Оценка онколитической активности ряда ортопоксвирусов, аденовирусов и парвовирусов в отношении клеток глиом человека // Вестник РАМН, 2013, № 12, с. 4- 8.

4. Добрецов Г.Е., Косников В.В., Морозова Г.И., и др. Измерение градиента концентрации флуоресцентного зонда-катиона ДСМ на плазматической и митохондриальной мембранах лимфоцита // Биологические мембраны, 1986, т. 8, № 3, с. 266-273.

5. Morozova G.I., Parkhomenko T.V., Klitsenko O.A., Tomson V.V. Stimulating Effect of Erythropoietin on Thymocyte Energetics Established in vitro with Potential-sensitiv Fluorescent Probe // Biochemistry Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, Moscow, 2008, vol. 1, no 4, pp. 325-330.

НАНОКОМПОЗИТЫ КОБАЛЬТ-ФЕРРИТА/ЗОЛОТА-АРГИНИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АГЕНТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ Т-ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА Cobalt Zinc Ferrite/Gold-Arginine Nanocomposite as Promising Tool for Leukemia Treatment

Моторжина А.В.¹, Пшеничников С.Е.¹, Йованосич С.^{2,3}, Вукоманович М.³, Родионова В.В.¹, Левада Е.В.¹

¹ Балтийский Федеральный Университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ, motorzhina.anna@yandex.ru

² Институт ядерной физики Винча, Университет Белграда, г. Белград, Сербия

³ Институт Йозефа Штефана, г. Любляна, Словения

Магнитные наночастицы находят широкое применение в биомедицине, например, в качестве агентов для МРТ, гипертермии, адресной доставки лекарств и т.д. Магнитные наночастицы феррита кобальта привлекают внимание благодаря своей высокой химической и физической стабильности, а также настраиваемым магнитным свойствам [1]. Композиты состоят из магнитных наночастиц, покрытых гидрофильной дигидрокофейновой кислотой (DHCA), и антибактериальных наночастиц золота, покрытых аргинином. В данной работе мы исследовали влияние композитов трех составов на пролиферативную активность клеточной линии Jurkat (Российская коллекция клеточных культур Института цитологии РАН). Составы исследованных нанокompозитов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Составы исследованных нанокompозитов

NP 3	Композит наночастиц кобальт-феррита, покрытых дигидрокофейновой кислотой, и наночастиц золота, покрытых аргинином (CFO:DHCA=1:1/Au(arg))
NP 4	Композит наночастиц кобальт-феррита, легированных цинком, покрытых дигидрокофейновой кислотой, и наночастиц золота, покрытых аргинином (CFO Zn 0.5:DHCA=1:1/Au(arg))
NP 5	Композит наночастиц кобальт-феррита, легированных галлием, покрытых дигидрокофейновой кислотой, и наночастиц золота, покрытых аргинином (CFO Ga 0.5:DHCA=1:1/Au(arg))

Для сравнительной оценки пролиферативной активности использовали культивирование с водорастворимой солью тетразолия WST-1 (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Исследовались концентрации нанокompозита 0,1 и 0,5 мг/мл выдерживавшиеся в течение 2, 4, 8, 24, и 48 часов воздействия на клеточную суспензию. В течение последних 2 часов выдержки с нанокompозитом добавлялось 10 мкл реагента WST-1. Пролиферативная активность рассчитывалась по оптической плотности клеточной суспензии на длине волны 450 нм с помощью автоматического планшетного спектрофотометра Bio-Rad 680 (Bio-Rad Laboratories, USA). Рис.1 показывает статистически наименьшую пролиферативную активность культуры клеток после 24-часовой выдержки композитных наночастиц. Сравнение жизнеспособности клеток Jurkat после воздействия с различными концентрациями композитов показывает наивысшую цитотоксичность при концентрации 0,5 мг/мл композита NP5.

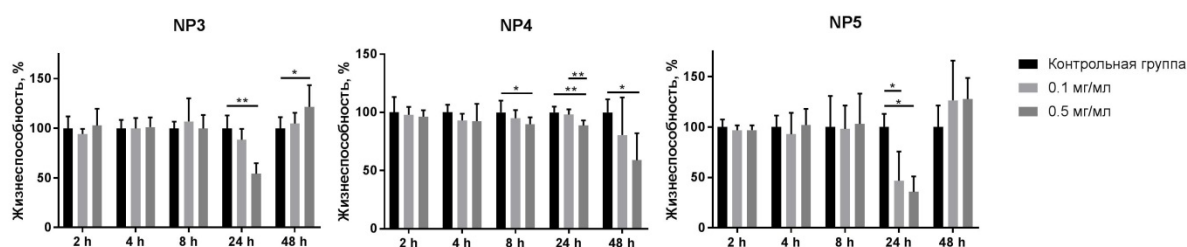


Рисунок 1. Влияние времени выдержки нанокompозитов различных концентраций на жизнеспособность клеточной линии Jurkat. Относительная жизнеспособность после выдержки нанокompозитов представлена в процентах по сравнению с контрольной группой. Показанные результаты представляют собой среднее значение \pm стандартное отклонение от трех повторностей, **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$ (критерий Краскела-Уоллиса)

Таким образом, композит наночастиц кобальт-феррита, легированных галлием, покрытых дигидрокофейновой кислотой, и наночастиц золота, покрытых аргинином в концентрации 0,1 мг/мл оптимален для использования в биомедицине в качестве терапевтического агента для лечения Т-лимфобластного лейкоза.

1. Muscas G. et al. Zn-doped cobalt ferrite: Tuning the interactions by chemical composition // Journal of Alloys and Compounds, 2019, vol. 796, pp. 203-209. doi: 10.1016/j.jallcom.2019.04.308

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В ДИНАМИКЕ АПОПТОЗА, ИНДУЦИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА

Structural and Functional Modifications of Human Lymphocytes in the Dynamics of Apoptosis Induced by Exposure to Hydrogen Peroxide

Наквасина М.А., Старикова Т.И., Артюхов В.Г.

Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, nakvasina_ma@mail.ru

С использованием методов проточной цитофлуориметрии, флуоресцентных зондов, электронной и флуоресцентной микроскопии, спектрофотометрии исследованы структурно-функциональные модификации лимфоцитов периферической крови доноров в динамике апоптоза, индуцированного воздействием пероксида водорода в конечной концентрации 10^{-5} моль/л.

Лимфоциты получали путем центрифугирования донорской крови в градиенте плотности фикоколлурографина (плотность – $1,077$ г/см³). Определение уровня CD95-рецепторов смерти лимфоцитов проводили при помощи набора FITC Mouse Anti-Human CD95 («BD Pharmingen™», США) на проточном цитометре Guava easy Cyte 8HT (Merck Millipore), обработку данных – при помощи программы In Cyte. Внутриклеточный уровень активных форм кислорода и свободных ионов кальция исследовали соответственно с помощью 2',7'-дихлорфлуоресцеин диацетата и Fura-2AM на спектрофлуориметре Shimadzu RF-1501 (Япония). Число жизнеспособных клеток во взвесах определяли методом эксклюзии трипанового синего. Определение ферментативной активности каталазы осуществляли спектрофотометрическим методом при длине волны 410 нм. Поверхностную архитектуру лимфоцитов изучали методом сканирующей электронной микроскопии на сканирующем электронном микроскопе JSM-6380 LU (Япония) при ускоряющем напряжении 20–25 кВ. При исследовании состояния ядер лимфоцитов, окрашенных пропидиумом йодидом, использовали флуоресцентный микроскоп Nikon ECLIPSE Ni-E/Ni-U Nikon (Япония).

Установлено, что пероксид водорода (10^{-5} моль/л) вызывает статистически достоверное увеличение уровня экспрессии рецепторов смерти – CD95 (Fas) – лимфоцитов через 1 ч на 17 % и через 2 ч на 76 % по сравнению с таковым для контрольных образцов.

Через 2 ч после инкубации с H₂O₂ отмечалось уменьшение размеров клетки, ее «округление», уменьшение числа ворсинок на поверхности лимфоцитов. Через 3 ч после воздействия на лимфоциты пероксида водорода наблюдалось усиление признаков «округления» клетки, появление «гладкости» плазматической мембраны, исчезновение ворсинок на поверхности клеток. Воздействие H₂O₂ на лимфоциты индуцировало конденсацию хроматина в клеточных ядрах.

Обнаружено статистически значимое повышение уровня внутриклеточных активных форм кислорода через 1 и 2 ч после модификации лимфоцитов пероксидом водорода (10^{-5} моль/л) по сравнению с таковым для интактных клеток. Выявлено, что активность каталазы лимфоцитов человека через 1 ч после добавления пероксида водорода повышается на 24 % по сравнению с таковой для нативных иммуноцитов.

Характер изменений уровня внутриклеточного кальция после воздействия пероксида водорода на лимфоциты более сложный: сразу после инкубации клеток наблюдается статистически значимое по сравнению с контролем повышение величины исследуемого параметра, а через 1 и 3 часа – снижение по отношению к таковому для интактных клеток. Возможно, в лимфоцитах в этих условиях происходят процессы перераспределения ионов кальция между клеточными компартментами.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу представления о том, что H₂O₂ в концентрации 10^{-5} моль/л инициирует реализацию Fas-зависимого рецепторопосредованного и митохондриального механизмов апоптоза лимфоцитов человека. Активные форм кислорода и ионы кальция – медиаторы процессов клеточной гибели лимфоцитов в условиях воздействия пероксида водорода.

Выявлено защитное действие транс-ресвератрола (Shaanxi Hongao Bio-Tech Inc., Китай) в концентрации 10^{-6} моль/л по отношению к уровню жизнеспособности лимфоцитов после воздействия пероксида водорода. Обнаруженный протекторный эффект ресвератрола обусловлен его способностью снижать уровень активных форм кислорода в интактных и модифицированных пероксидом водорода иммуноцитах. Ресвератрол также проявлял антирадикальную активность по отношению к пероксиду водорода, но не к гидроксильному радикалу в модельных экспериментах с использованием метода люминолзависимой хемилюминесценции. Защитное действие ресвератрола по отношению к лимфоцитам, модифицированным воздействием пероксида водорода, может быть обусловлено не только ингибированием радикальных соединений, но и встраиванием его молекул в липидный бислой плазматической мембраны, увеличением степени ее жесткости и возрастанием устойчивости к пероксидному окислению липидов. Следовательно, ресвератрол является регулятором процессов апоптотической гибели лимфоцитов, связанных с интенсификацией образования активных кислородных метаболитов.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2020-2022 годы, проект № FZGU-2020-0044

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НА ЭРИТРОЦИТЫ И ГЕМОГЛОБИН МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ОКИСЛЕНИИ ГИПОХЛОРИДОМ

Protective Action of NO Metabolites on Erythrocytes and Hemoglobin under Hydrochloride Oxidation

Насыбуллина Э.И., Космачевская О.В., Шумаев К.Б., Топунов А.Ф.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ,
lvirus198709@rambler.ru

В настоящее время в качестве возможных регуляторов морфо-функциональных свойств эритроцитов рассматриваются доноры оксида азота (NO) [1]. Целью данной работы было изучение защитного действия физиологических метаболитов NO – динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) на эритроциты и гемоглобин при действии хлорноватистой кислоты (HOCl/OCl⁻), которая является предшественником свободных радикалов и важнейшей составляющей бактерицидной системы организма человека и животных.

Во всем диапазоне используемых концентраций HOCl в эритроцитах, обработанных ДНКЖ с глутатионовыми лигандами (GS-ДНКЖ), уровень гемолиза был ниже, чем в контрольном образце. Для сравнения было исследовано действие веществ, образующихся при диссоциации GS-ДНКЖ или их распаде: нитрозоглутатиона (GSNO), восстановленного глутатиона (GSH), нитрит-ионов (NO₂⁻) и двухвалентного железа (Fe²⁺). Предварительная обработка эритроцитов указанными веществами, взятыми в концентрациях эквивалентных их содержанию в ДНКЖ, приводила к ингибированию окислительного гемолиза эритроцитов. NO₂⁻ ингибировал гемолиз на 35%, GSNO – на 20%, GSH – на 42%, а ионы Fe²⁺ не оказывали влияния на устойчивость клеток. Степень ингибирования ДНКЖ-GS в этих условиях составляла 55%. Наблюдаемое цитопротекторное действие ДНКЖ может быть связано с их способностью непосредственно взаимодействовать с HOCl. Тем более, что ранее в наших исследованиях с помощью спектроскопии ЭПР была показана способность GS-ДНКЖ эффективно перехватывать HOCl [2]. На основании этого факта можно заключить, что цитопротекторное действие комплексов может быть обусловлено их антиоксидантным и антирадикальным действием. Однако принимая во внимание используемые в эксперименте низкие (микромольные) концентрации GS-ДНКЖ, мы полагаем, что наиболее вероятно сигнально-регуляторное действие этих комплексов на мембранные и внутриклеточные белки.

Особенностью ДНКЖ как цитопротекторов является низкий порог эффективной дозы (2 мкМ). Это их выгодно отличает от биологических антиоксидантов: α-токоферола и аскорбиновой кислоты, оказывающих 100% ингибирование окислительного гемолиза только начиная с концентрации 100 мкМ. Также у этих комплексов разница между биологически активной дозой и повреждающей намного больше, чем у нефизиологических биорегуляторов. Даже в концентрации 400 мкМ GS-ДНКЖ все еще оказывали положительное действие на эритроциты.

Также было изучено действие ДНКЖ на окислительную модификацию гемоглобина гипохлоридом. ДНКЖ, связанные с гемоглобином (Hb-ДНКЖ), снижали уровень карбонильных производных белка, в то время как GS-ДНКЖ, наоборот, стимулировали карбонилобразование. Связанные с белком (Hb-ДНКЖ) и низкомолекулярные (GS-ДНКЖ) препятствовали разрушению гемовой группы во всем диапазоне используемых концентраций окислителя (0,5 – 7 мМ), причем ДНКЖ-GS были более эффективны. Изучение агрегации Hb с помощью электрофореза в 12% ПААГ с SDS показало, что в присутствии GS-ДНКЖ и Hb-ДНКЖ межсубъединичная сшивка была менее выражена, чем в контрольном образце. В случае GS-ДНКЖ этот эффект связан с антиоксидантным действием GSH, присутствующего в препарате комплексов, а в случае Hb-ДНКЖ – с антиоксидантным и антирадикальным действием ДНКЖ, связанных Cys-93β гемоглобина [3].

Изучение защитного действия ДНКЖ на эритроциты и гемоглобин важно не только для понимания механизмов, лежащих в основе регуляции жизнедеятельности клетки, но и имеет практическую значимость для разработки лекарственных препаратов противоишемического действия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 19-29-12052) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

1. Шамова Е.В., Бичан О.Д., Дрозд Е.С. и др. Регуляция функциональных и механических свойств тромбоцитов и эритроцитов донорами монооксида азота // Биофизика, 2011, т. 56, № 2, с. 265-271.

2. Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O. et al. Protective effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione in red blood cell lysis induced by hypochlorous acid // Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, e2798154. doi: 10.1155/2019/2798154

3. Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Шумаев К.Б. и др. Влияние комплексов железа с оксидом азота на реакционную способность цистеинов гемоглобина // Прикл. биохимия и микробиология, 2020, т. 56, № 5, с. 436-445. doi: 10.31857/S0555109920050098

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ САХАРИДОВ НА ФУРЬЕ-СПЕКТР ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Effect of Natural Saccharides on the Fourier Spectrum of Human Blood Plasma

Нечипоренко А.П.¹, Везо О.С.², Нечипоренко У.Ю.³, Плотникова Л.В.², Ситникова В.Е.¹, Плотников П.П.²

¹ Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург, РФ, *allanech2512@yandex.ru; kresenka@gmail.com*

² Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, *o.vezo@spbu.ru; ljustja@mail.ru, st079272@student.spbu.ru*

³ Независимая лаборатория "ИНВИТРО СПб.", г. Санкт-Петербург, РФ, *unechiporenko@yandex.ru*

Методом ИК-спектроскопии НПВО исследовано влияние меда разного ботанического вида, свекловичного сахара и природного подсластителя стевиозид, в качестве провоцирующей нагрузки, на толерантность к глюкозе и скорость вывода ее из кровотока. Исследования проводились методом гликемических кривых по 4 точкам плазмы крови с забором крови с интервалом 40 минут. Провоцирующая нагрузка (2 ч.л.) в виде сладкого напитка выпивалась сразу после первого забора крови натощак. Контроль на содержание глюкозы в кровотоке проводили на биохимическом анализаторе глюкозооксидазным методом. Донором крови являлась женщина, прошедшая в течение года курс медикаментозного лечения на начальной стадии заболевания диабетом 2 типа на фоне безуглеводной диеты [1].

Предварительное исследование серии медов (60 образцов) методом рефрактометрии, ИК-спектроскопии и биохимического анализа позволило разделить их на две основные группы по соотношению глюкозы и фруктозы и идентифицировать полосы, обусловленные их поглощением в ИК-спектрах исходных медов, их растворах и плазме крови. Полученные результаты показали линейные зависимости между содержанием в выбранных образцах меда моносахаридов и рефрактометрическими показателями (рис. 1а), а также интенсивностью их полос поглощения в ИК-спектрах (рис. 1б).

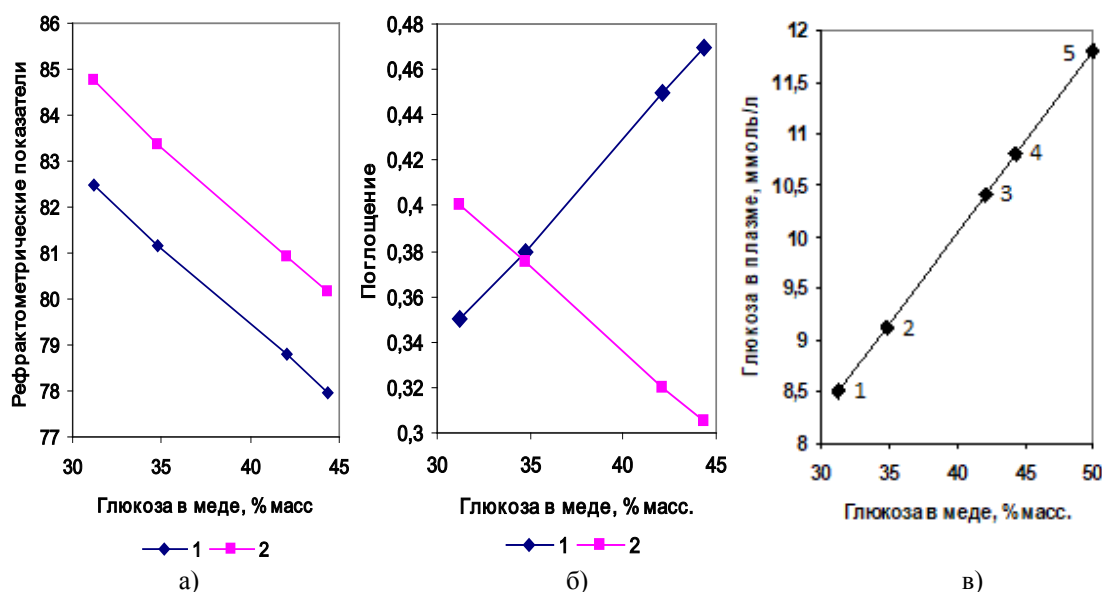


Рисунок 1. а) Зависимости рефрактометрических показателей: 1 – $n_{D,20}$, 2 – инвертный сахар, % масс; б) интенсивности полос поглощения 1 – глюкозы (1009 см^{-1}) и 2 – фруктозы ($1055\text{--}1060\text{ см}^{-1}$) от содержания глюкозы в меде; в) уровень глюкозы в плазме крови после нагрузки, где провокатор: 1 – мед акации белой, 2 – каштановый, 3 – гречишный, 4 – степной, 5 – сахар

Рисунок 1в иллюстрирует изменение уровня глюкозы в плазме крови после приема провоцирующей нагрузки (контрольная точка 2), в зависимости от содержания глюкозы в образце меда. Полученная зависимость показывает на увеличение уровня глюкозы в кровотоке с увеличением ее содержания в составе меда. Самое высокое содержание глюкозы в плазме регистрируется при приеме равнозначного количества сахара. Методом ИК-спектроскопии НПВО плазма исследовалась на углеводы, общий белок, фракционированные глобулины и альбумины. Сушка образцов проводилась при $20\text{--}22^\circ\text{C}$ на предметном столике прибора до стабилизации параметров спектра.

Исследования проведены с использованием оборудования ресурсного центра «Центр диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и нанoeлектроники», Научный парк СПбГУ.

1. Нечипоренко А.П., Нечипоренко У.Ю., Ситникова В.Е. Фурье-спектроскопия в исследовании плазмы крови с диабетом второго типа // Вестник ИТМО, 2021, № 1, с. 52-65.

АЦИДОЗ И ЭФФЕКТ ВЕРИГО-БОРА ПРИ РАЗВИТИИ COVID-19 Acidosis and Bohr Effect in COVID-19 Development

Нечипуренко Ю.Д.¹, Семёнов Д.А.^{2,3}, Лавриненко И.А.⁴, Лагуткин Д.А.⁵, Генералов Е.А.⁶, Зайцева А.Ю.⁷,
Матвеева О.В.⁸, Егоров Е.Е.¹

¹ Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН, г. Москва, РФ, *nech99@mail.ru*

² НИИ молекулярной медицины и патобиохимии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, РФ

³ Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, РФ

⁴ Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ

⁵ Московский физико-технический институт, Московская область, г. Долгопрудный, РФ

⁶ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

⁷ Институт аналитического приборостроения РАН, г. Санкт-Петербург, РФ

⁸ Сендай Виралитикс, Актон, США

Данное исследование является продолжением наших работ по изучению свойств заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2 [1-3]. Тяжелое течение болезни COVID-19 имеет свои особенности, выделяющие вирус SARS-CoV-2 среди многих инфекций. Мы полагаем, что патогенез тяжелых форм COVID-19 связан с ацидозом, который при этом часто наблюдается. Рассмотрен ряд механизмов, связывающих повреждающие факторы COVID-19 с ацидозом, показано существование положительных обратных связей между развитием гипоксии и ацидоза. На ранних этапах болезни воспаление, затруднение газообмена, тромбоз и другие поражения организма приближают возникновение ацидоза. В соответствии с эффектом Вериги-Бора снижение pH крови приводит к падению сатурации, что способствует дальнейшему развитию ацидоза и приводит к ухудшению состояния пациента. Снижение pH может также вызывать конформационные изменения в S-белке вируса и вести к снижению аффинности и авидности антител. Гипоксия и ацидоз приводят к нарушениям регуляции иммунной системы и разнонаправленным про- и противовоспалительным реакциям, вплоть до развития «цитокинового шторма».

1. Зайчук Т.А., Нечипуренко Ю.Д., Аджубей А.А. и др. Проблемы создания вакцин против бетакоронавирусов: антителозависимое усиление инфекции и вирус Сендай как возможный вакцинный вектор // Молекулярная биология, 2020, т. 54, № 6, с. 922-938.

2. Нечипуренко Ю.Д., Анашкина А.А., Матвеева О.В. Изменение антигенных детерминант S-белка вируса SARS-CoV-2 как возможная причина антителозависимого усиления инфекции и цитокинового шторма // Биофизика, 2020, т. 65, с. 824-832.

3. Нечипуренко Ю.Д. и др. Патогенез Covid-19: роль ацидоза. В сборнике работ конференции «Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции NT + M&Ec`2021» (Гурзуф, с 31 мая по 10 июня 2021 г.).

ГИПОТЕЗА КОНТАМИНАЦИИ МЕМБРАН ДЛЯ ЭПИЛЕПСИИ И КЕТОГЕННАЯ ДИЕТА The Membrane Contamination Hypothesis for Epilepsy and the Ketogenic Diet

Нечипуренко Ю.Д.¹, Гарсия Рейес Р.С.², Эрнандес Касерес Х.Л.²

¹ Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН, г. Москва, РФ, *nech99@mail.ru*

² Кубинский Центр Нейронаук, г. Гавана, Куба

Приводятся данные в пользу гипотезы контаминации мембраны Альтрупа, связывающей параксизмальную деполяризацию, наблюдаемую при эпилептической активности, с пейсмейкерным потенциалом. Предложена связь между физико-химическими характеристиками мембраны, текучестью и контаминациями, и способностью проводить импульс и перезаряжаться. Обсуждаются предложенные ранее способы лечения эпилепсии, основанные на кетогенной диете и их возможные механизмы в свете гипотезы Альтрупа. Среди возможных механизмов действия кетогенной диеты подчеркивается антиэпилептическое действие кетоновых тел, роль повышенного синтеза глутатиона и эффект полиненасыщенных жирных кислот и холестерина, включенных в состав диеты. Эти три механизма, среди других эффектов, приводят к регуляции текучести и других биофизических свойств липидного бислоя, а также к деконтаминации мембраны от амфифильных примесей, в соответствии с гипотезой Альтрупа.

1. Altrup U., Häder M., Hernández Cáceres J.L. et al. Epileptogenic drugs in a model nervous system: Electrophysiological effects and incorporation into a phospholipid layer // Brain Research, 2006, vol. 1122, pp. 65-77.

2. Altrup U., Hader M., Storz U. Endogenous pacemaker potentials develop into paroxysmal depolarization shifts (PDSs) with application of an epileptogenic drug // Brain Research, 2003, vol. 975, pp. 73-84.

3. Kononenko N.I. Dissection of a model for membrane potential oscillations in bursting neuron of snail, *Helix pomatia* // *Comp. Biochem. Physiol.*, 1994, vol. 107A, pp. 323-332.
4. García Reyes R.C. Study of the dynamics of paroxysmal depolarization shifts in stochastic neuronal models // B.Sc. Thesis, Faculty of Mathematics, Havana University, 2020.
5. Резаева М.Н., Хенчель М., Хосе Л. Эрнандес, Твердислов В.А. Влияние ряда гомологических одноатомных спиртов на активность и взаимодействие Na^+ , K^+ - АТФ-азы с ионами калия // *Биофизика*, 1980, т. 25, с. 41-43.

ПОЛУЧЕНИЕ НУТРИЦЕВТИКОВ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ КОЛЛАГЕНА И КОМПОНЕНТОВ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ СУСТАВОВ
Preparation of Nutraceuticals on the Basis of Low-Molecular Collagen Peptides Complex with Glycosaminoglycan Components to Treat and Prevent Joint Diseases

Николаева Т.И.¹, Лауринавичюс К.С.², Молчанов М.В.¹, Кузнецова С.М.¹, Емельяненко В.И.¹,
Смирнов А.А.¹, Шеховцов П.В.¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, РФ, tomivnik@yandex.ru

² Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, г. Пущино, РФ

Болезни суставно-связочного аппарата человека представляют как медицинскую, так и биологическую проблему. Заболевания сопровождаются разрушением соединительных тканей, их структурных компонентов: коллагеновых фибрилл и протеогликанов. Одна из попыток решения этой проблемы в РФ и за рубежом: для укрепления тканей применяют гликозаминогликаны (хондропротекторы). Хондропротекторы восстанавливают ткани не полностью. Другой попыткой в странах Европы и США является применение гидролизатов коллагена [1].

Одним из перспективных решений этой проблемы является получение нутрицевтиков (биологически активных добавок) на основе гидролизата коллагена, содержащего низкомолекулярные (короткие) пептиды в комплексе с гликозаминогликанами. Низкомолекулярные пептиды могут выполнять не только строительную, но и регуляторную функцию. Известно, что ди- и трипептиды коллагена регулируют функции нейроэндокринной и иммунной систем [2]. Глипролины Pro-Gly-Pro, Gly-Pro, Pro-Gly активизируют также протекторно-защитный эффект в желудке и ускорение заживления язв.

Недостающие концентрации коллагена и протеогликанов можно восполнить веществами, содержащимися в соединительных тканях сельскохозяйственных животных. Мы разработали природоподобную технологию получения комплекса пептидов коллагена и гликозаминогликанов, включающую последовательные этапы от гомогенизации сырья до ферментативного гидролиза. Доступность ферментов для молекул коллагена, упакованных в фибриллы, облегчается для частиц минимального размера, подвергнутых тепловой обработке. В гомогенизаторе высокого давления «Донор-3», разработанного в г. Пущино Капцовым В.В. и другими [3], возможно совмещать действие температуры и давления. Сравнительный анализ физико-химических свойств гомогенатов в зависимости от условий гомогенизации был выполнен с помощью методов микрокалориметрии и фотон-корреляционной спектроскопии. Мы исследовали ферментативный гидролиз биополимеров хрящевой ткани в зависимости от pH, температуры, концентрации ферментов и продолжительности процесса. Было проверено действие ферментных препаратов на основе папаина российских производителей («Карипазим»). Лекарственное протеолитическое средство «Карипазим» выпускают в России в п. Оболенск Московской обл. ЗАО «Вифитех» и ООО «МедФлорина».

Анализ гидролизатов был выполнен с помощью методов спектрофотометрии («Specord UV VIS», Германия), масс-спектрометрии («MALDI-TOF» Autoflex speed, Bruker, Германия) и ЯМР-спектроскопии («Bruker 600 AVANCE III», Германия). Степень гидролиза была выше у гидролизатов, полученных под действием карипазима ООО «МедФлорина».

После действия карипазима на гомогенат при температуре 50°C, концентрации фермента 5% пептидный профиль был расположен в интервале от 240 до 780 D. С повышением температуры до 55°C, а концентрации карипазима до 10% образуются более низкомолекулярные пептиды в интервале от 240 до 620 D. Методом ЯМР получены спектры, на которых идентифицированы пептиды и гиалуроновая кислота. Распределение молекулярных масс олигосахаридов гликозаминогликанов расположено в диапазоне от 240 до 720 D. Мы получили комплекс низкомолекулярных пептидов коллагена и гликозаминогликанов. Если сравнивать молекулярные массы гидролизатов коллагена, полученные нами, с импортными аналогами, следует отметить, что мы создали образцы, не уступающие «Flexinovo» (Польша), и имеющие преимущества по сравнению с «BioCell Collagen II» (США).

1. Lopez H.L. Osteoarthritis supplement nutritional interventions to prevent and treat osteoarthritis. Part II: Focus on micronutrients and supportive nutraceuticals // *Amer. Acad. Physic. Med. Rehab.*, 2012, vol. 4, pp. S155-S168.

2. Бакаева З.В., Ермакова Н.В., Манкаева О.В. и др. Продукты гидролиза коллагена уменьшают образование стрессорных язв, регулируя стресс-ассоциированную активацию нейроэндокринной и иммунной систем // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2018, т. 165, с. 438-442.

3. Патент РФ № 2035855. Лабораторный гомогенизатор / Капцов В.В., Русаков Г.Н., Илларионов Ю.А., Соловьев В.Е., Кукушкин Н.И., Файн А.М. Бюллетень № 15. Опубликовано 27.05.1995.

РОЛЬ ПЕРОКСИРЕДОКСИНОВ В НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ **The Role of Peroxiredoxins in Neutralizing Oxidative Stress in Ischemia-Reperfusion Injury of Internal Organs**

Новоселов В.И.

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, *novoselov-vi@rambler.ru*

Ишемия – патологический процесс, который развивается при снижении уровня кровообращения в органе, что приводит к развитию гипоксии. Однако губительным для органов является не отсутствие кислорода, а его появление после возобновлении кровообращения – реперфузии (ишемически-реперфузионное поражение, И-Р поражение). Наиболее опасным этапом И-Р поражения является стремительный рост концентрации свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК) на стадии реперфузии. Лавинообразный рост уровня АФК и вторичных продуктов свободно-радикального окисления биологических макромолекул приводит к развитию окислительного стресса и разрушению органа. Одним из способов нейтрализации И-Р поражения органов является использование эндогенных ферментов-антиоксидантов, в частности антиоксидантов класса пероксиредоксины. Среди этого класса антиоксидантов особое внимание привлекает пероксиредоксин 6 (Prx6), который кроме пероксидазной активности обладает фосфолипазной активностью.

В норме эндогенные пероксиредоксины играют ключевую роль в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках, участвуют в регуляции пролиферации и апоптоза клеток через регуляцию уровня эндогенных пероксидов, взаимодействуя с ключевыми транскрипционными факторами NRF2, NF- κ B и P53. При И-Р поражении наблюдается как стремительный рост концентрации АФК, так и многократное усиление экспрессии ферментов-антиоксидантов, при этом уровень экспрессии пероксиредоксинов (прежде всего Prx6) на порядок превышает уровень экспрессии таких ферментов-антиоксидантов, как супероксиддисмутаза или каталаза. В то же время при введении экзогенных пероксиредоксинов в организм животных перед И-Р поражением с одной стороны подавляет окислительное повреждение тканей, а с другой - регулирует сигнально-регуляторные пути клетки (TLR4/NF- κ B, KEAP1/NRF2, AP-1, P53), препятствует развитию апоптоза и способствует быстрой нормализации функции пораженных органов.

Мы показали, что внутривенное введение различных пероксиредоксинов и их модифицированных форм при ишемически-реперфузионном поражением почек и тонкого кишечника способствует примерно 2-х кратному росту выживаемости экспериментальных животных. Экзогенные пероксиредоксины способствуют сохранению морфологического состояния пораженных тканей, снижению уровня перекисного окисления липидов, быстрой нормализации микроциркуляторного русла, а также восстановлению функции органов в реперфузионный период.

Важно отметить, что экзогенный Prx6 способен проникать в клетки, оказывая влияние на их антиоксидантный статус и внутриклеточные процессы в клетке. Таким образом, защитный эффект экзогенных пероксиредоксинов связан не только с их антиоксидантной активностью, но также с сигнально-регуляторной функцией, опосредованной TLR4 / NF- κ B сигнальным путем.

Таким образом, использование экзогенных пероксиредоксинов может существенно уменьшить И-Р поражения органов, в частности в сохранении изолированных органов при трансплантации.

1. Goncharov R.G., Rogov K.A., Temnov A.A. et al. Protective role of exogenous recombinant peroxiredoxin-6 under ischemia-reperfusion injury of kidney // *Cell Tissue Res.*, 2019, vol. 378, no. 2, pp. 319-332.

2. Шарапов М.Г., Фесенко Е.Е., Новоселов В.И. Роль пероксиредоксинов в патологиях, сопровождающихся окислительным стрессом. Перспективы применения экзогенных пероксиредоксинов // *Биофизика*, 2018, т. 63, № 4, с. 734-750.

3. Gordeeva A.E., Sharapov M.G., Tikhonova I.V. et al. Vascular pathology of ischemia/reperfusion injury of rat small intestine // *Cells Tissues Organs*, 2017.

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА ХРОМАФФИНОЦИТОВ НАДПОЧЕЧНИКОВ В НАРУШЕНИЯХ СЕКРЕЦИИ АДРЕНАЛИНА, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ЭНДОКРИННЫМ ДИСРАПТОРОМ ДДТ

Role of Adrenal Chromaffin Cell Mitochondria in Impaired Epinephrine Production Induced by Endocrine Disruptor DDT

Обернихин С.С., Яглова Н.В., Яглов В.В., Цомартова Д.А.

НИИ морфологии человека, г. Москва, РФ, ober@mail.ru

В настоящее время увеличивается количество данных, свидетельствующих о роли эндокринных дисрапторов в развитии патологических процессов в нервной системе и соответствующих соматических расстройствах. В наших предыдущих исследованиях мы выявили уменьшение продукции катехоламинов в организме, развивающемся при воздействии низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ), обусловленном снижением экспрессии тирозингидроксилазы – ключевого фермента, лимитирующего скорость их синтеза [1]. Известно, что в хромаффинных клетках надпочечников митохондрии играют важную роль в выделении секреторного продукта из клеток [2]. Целью настоящего исследования стало изучение изменений митохондриального аппарата хромаффиноцитов надпочечников крыс, развивающихся в условиях воздействия низких доз эндокринного дисраптора ДДТ. Исследование выполнено на самцах крыс Вистар, подвергавшихся низкодозовому воздействию ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии. Крыс выводили из эксперимента в пубертатном и постпубертатном периоде. Определяли содержание адреналина в плазме крови, изучали гистологические препараты надпочечников, определяли экспрессию тирозингидроксилазы иммуногистохимическим методом, проводили трансмиссионную электронную микроскопию хромаффиноцитов.

Исследование контрольной группы показало, что при переходе от пубертата к половой зрелости концентрация адреналина в крови снижается, а уровень экспрессии тирозингидроксилазы не меняется. Следовательно, снижение секреции адреналина обусловлено другими механизмами. Изучение ультраструктуры хромаффиноцитов выявило уменьшение размеров цитоплазмы и значительное уменьшение числа митохондрий в 1 мкм² цитоплазмы, то есть истинное уменьшение числа митохондрий, что с учетом их роли в секреторном процессе, можно рассматривать как механизм снижения выброса адреналина в кровь. В пубертатном возрасте у крыс опытной группы выявлены снижение продукции адреналина на 25%, уменьшение экспрессии тирозингидроксилазы по сравнению с контрольными животными. Хромаффиноциты имели меньшие размеры, число митохондрий в 1 мкм² было на 40% снижено по сравнению с контролем, а количество секреторных гранул, содержащих адреналин, наоборот, было повышено на 20%. После наступления половой зрелости концентрация адреналина была вдвое ниже контрольных значений, уровень экспрессии тирозингидроксилазы снизился еще больше. Количество митохондрий в клетках не изменялось по сравнению с пубертатным периодом и не отличалось от значений контрольной группы. В структуре митохондрий произошли значительные изменения. Наблюдался выраженный отек матрикса и деструкция крист. Митохондрии под плазмалеммой клеток, участвующие в экзоцитозе секреторных гранул, встречались редко. Количество секреторных гранул в 1 мкм² было снижено на 60%. Таким образом, уменьшение числа митохондрий в пубертатном периоде, их деструктивные изменения и уменьшение числа субплазмалеммальных митохондрий в постпубертатном периоде можно рассматривать как один из механизмов дисрапторного действия ДДТ, приводящий к уменьшению экзоцитоза секреторных гранул и снижению секреции адреналина в системный кровоток.

1. Яглова Н.В., Цомартова Д.А., Яглов В.В. Влияние пренатального и постнатального воздействия низких доз дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) на секрецию катехоламинов у крыс в разные периоды онтогенеза // Бюлл. exper. биол., 2017, т. 163, № 4, с. 415-418.

2. Villanueva J., Viniegra S., Gimenez-Molina Y. et al. The position of mitochondria and ER in relation to that of the secretory sites in chromaffin cells // Journal of Cell Science, 2014, vol. 127, pp. 5105-5114.

КОРРЕЛЯЦИОННО-РЕГРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ СОБАК

Correlation-Regression Analysis of Biochemical Parameters in Dogs' Blood

Олешкевич А.А., Щеглаков И.П.

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина,
г. Москва, РФ, kompstota@gmail.com

Статистический анализ результатов биохимических исследований сыворотки крови животных помогает определить количественные и качественные характеристики, установить частоту встречаемости (повторяемости) заданных параметров. Также анализ индикаторов может выявить наличие связей между параметрами, достоверно их оценить, обеспечив в дальнейшем надёжность и своевременность прогнозирования.

Для исследования были сформированы группы животных с заболеваниями обмена и сердечно-сосудистой системы. Общее количество домашних собак различных пород и возрастов, отобранных для исследований, составило 123 особи.

Биохимическое исследование анализов крови собак включало определение основных 30 маркеров обмена веществ организма (активности ферментов, концентрации микроэлементов). Отклонение значений выбранных показателей от нормы является симптомом развития/наличия различных заболеваний или нарушений регуляции обмена веществ, работы систем и органов. Статистический анализ проводили с использованием метода корреляционного анализа в системе *Statistica 6.0*. Были определены коэффициенты корреляции основных биохимических показателей как между собой, так и со значениями концентраций микроэлементов. Коэффициент характеризует силу связи индикаторных показателей и ее направление.

Примеры значений показателей, найденные при определении корреляционной зависимости (в скобках даны коэффициенты корреляции, $p < 0,05$):

- триглицериды — холестерин (0,8);
- гамма-глутамилтрансфераза — билирубин прямой (0,93);
- гамма-глутамилтрансфераза — билирубин общий (0,94);
- гамма-глутамилтрансфераза — аланинаминотрансфераза (0,68);
- кальций — липаза (0,64);
- лактатдегидрогеназа — аспаратаминотрансфераза (0,53);
- натрий — липаза (0,58);
- аланинаминотрансфераза — билирубин прямой (0,689).
- аланинаминотрансфераза — аспаратаминотрансфераза (0,85).

Данные, полученные в результате исследования, свидетельствуют о том, что между значениями активности ферментов гомеостаза, показателями белкового и минерального обмена (концентрацией ряда микроэлементов в сыворотке крови) существуют тесные и средние положительные связи.

ИК СПЕКТРЫ И СТРУКТУРА ХРОМЕНОПИРИДИНКАРБОНИТРИЛЬНЫХ СИСТЕМ IR Spectra and Structure of Chromenopyridinecarbonitrile Systems

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

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов РФ, imbabkov@gmail.com

В сообщении представлены результаты исследований строения и колебательных ИК спектров ранее неизвестных хроменопиридинкарбонитрильных систем: 5-амино-2,4-диимино-3-(пиридин-2-ил)-2,3,4,10b-тетрагидро-1H-хромено[3,4-с]пиридин-1-карбонитрила (I) и 4-амино-2,5-диимино-3-(пиридин-2-ил)-2,3,5,10b-тетрагидро-1-хромено[3,4-с]пиридин-1-карбонитрила (II). Эти системы реализуются в виде смеси amino-имино таутомеров, что ранее было доказано с помощью одномерной (ЯМР ^1H) и двумерной (HSQC $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ и HMBC $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) спектроскопии. Хромено[3,4-с]пиридинкарбонитрильные системы в последнее время активно изучаются, что связано с их противомикробной, противоопухолевой, антибактериальной, противовоспалительной и другими видами биологической активности.

Целью нашей работы было построение структурно-динамических моделей соединений (I) и (II): установление структуры и получение ИК спектров – и интерпретация на этой основе измеренного ИК спектра образца, состоящего из смеси таутомеров.

ИК спектр образца измерен при комнатной температуре на Фурье спектрофотометре Shimadzu IRAffinity-1

В моделировании использован метод B3LYP/6-31g(d), реализованный в программном пакете GAUSSIAN'03 [1]. ИК спектры рассчитаны в гармоническом приближении.

На рисунке 1 приведено строение соединений (I) и (II). Таутомеры (I) и (II) отличаются друг от друга расположением групп =NH и -NH₂.

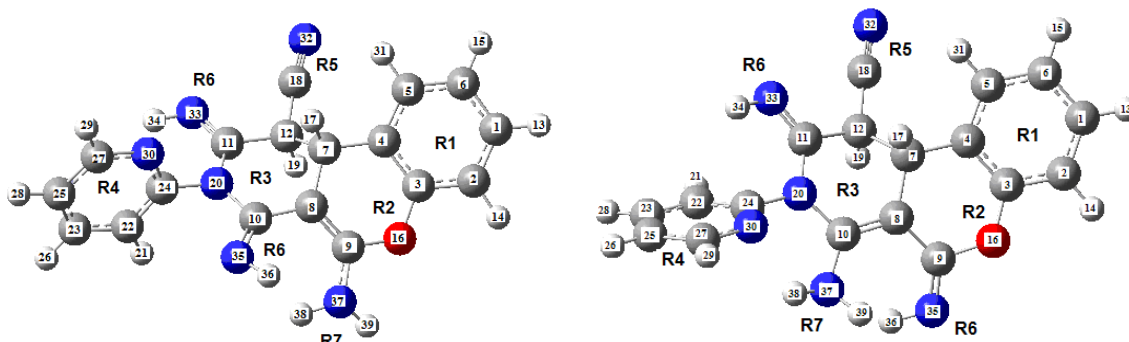


Рисунок 1. Строение соединений (I) и (II)

На основе анализа результатов моделирования установлено, что таутомерный переход сопровождается изменением угла поворота кольца R4 относительно остальной части молекулы и изменением длин некоторых связей C₈-C₁₀, C₁₁-N₂₀, C₈-C₉, C₉-O₁₆.

Наиболее существенные моменты, касающиеся ИК спектров и их интерпретации, таковы. Колебания в соединениях (I) и (II) сильно делокализованы. Спектрально-структурные признаки этих соединений, как оказалось, выделить трудно из-за их сложности. Тем не менее, в ходе анализа ИК спектров были идентифицированы полосы, наиболее характерные для того или иного таутомера. Такие полосы есть во всех областях спектра. В частности, интенсивные колебания в области 2295-2210 и 1580-1640 см⁻¹, относящиеся к колебаниям групп -C≡N, =NH, -NH₂, являются спектральными признаками таутомеров.

Колебание с частотой 1346 см⁻¹ измеренного спектра соответствует колебанию с частотой 1353 см⁻¹ соединения (II). Это – неплоское деформационное колебание фрагмента, непосредственно прилегающего к группам =NH и -NH₂. Колебание с частотой 1234 см⁻¹ измеренного спектра соответствует колебанию с частотой 1253 см⁻¹ соединения (I). Это – неплоское колебание кольца R4, угол поворота которого изменяется при таутомерном переходе. Колебание 1037 см⁻¹ измеренного спектра соответствует колебанию с частотой 1054 см⁻¹ соединения (I). Это – неплоское деформационное колебание связи C-O.

Основной полученный результат проведенных исследований таков: установлено строение таутомеров (I) и (II), подтверждено наличие этих соединений в смеси таутомеров и дана интерпретация измеренного ИК спектра. На примере поли(гетеро)ароматических систем с хроменопиридинкарбонитрильным фрагментом показано, что использование теоретических методов определения структуры и моделирование колебательных спектров вполне оправдано при недостаточных экспериментальных данных или их полном отсутствии.

1. Frisch J., Trucks G.W., Schlegel H.B. Gaussian03, Revision B.03; Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003, 302 p.

СПЕКТРОМЕТРИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ В РАСТВОРЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЫ Spectrometry of Plant Polysaccharides in Electrochemically Activated Water

Погорелов А.Г.¹, Ипатов Л.Г.¹, Гулин А.А.², Погорелова В.Н.¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино, РФ

² ФИЦ Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ

В данной работе изучали действие электрохимически активированной воды (ЭХАВ) на полисахариды растительного происхождения (агар, модифицированный крахмал, пищевой крахмал). Используя UV-vis спектрометрию, времяпролетную масс-спектрометрию вторичных ионов (TOF-SIMS) и сканирующую электронную микроскопию, исследовали изменение свойств водных растворов полисахаридов. Показано, что исследуемые образцы подвержены модификации, направленность которой обусловлена используемой фракцией ЭХАВ (катодит или анолит). Выявленные особенности могут быть востребованы при разработке новых способов управления свойствами биологического сырья в технологии производства пищевых продуктов. Технология на основе ЭХАВ, которую относят к разряду «зеленых», может быть воспроизведена в промышленных масштабах.

КОЛЛОИДНЫЕ НАНОСИСТЕМЫ ДЛЯ УПРАВЛЯЕМОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ, ВОСПРИИМЧИВЫЕ К ВНЕШНИМ ФИЗИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ External Physical Stimuli-Sensitive Colloidal Nanocomposite Systems for Controlled Drug Delivery

Потапенков К.В.¹, Сыбачин А.В.¹, Ярославов А.А.¹, Таранов И.В.², Черепенин В.А.², Вдовин В.А.²,
Гуляев Ю.В.², Салецкий А.М.¹, Хомутов Г.Б.^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. Ломоносова, г. Москва, РФ, potapenkov.kirill@physics.msu.ru

² Институт радиотехники и электроники им. Котельникова, г. Москва, РФ

Перспективным подходом к радикальному повышению эффективности лекарственной терапии различного рода патологий является капсулирование, адресная доставка и управляемое высвобождение действующих лекарственных веществ в целевой области организма. Данной теме посвящено значительное число фундаментальных и прикладных биофизических и биоинженерных исследований. Однако, несмотря на большой ряд публикаций по данной теме, проблема создания биосовместимых оптимальных средств управляемой доставки лекарств не решена и остается актуальной в настоящее время.

Нами были разработаны новые нанокompозитные системы для доставки биологически активных веществ на основе липосом из фосфатидилхолина и функциональных неорганических наночастиц. В качестве функциональных неорганических наночастиц, обеспечивающих восприимчивость к внешним физическим

воздействиям, использовались наночастицы магнетита или золотые наночастицы. Ключевой особенностью везикул-носителей является локализация функциональных наночастиц непосредственно в гидрофобной области бислойной липидной мембраны. Для этого функциональные неорганические наночастицы были предварительно гидрофобизованы.

В качестве модельных высокомолекулярных веществ, загружаемых внутрь везикул, были выбраны противораковый антибиотик доксорубин и флуоресцентный краситель карбоксифлуоресцеин. Оба данных соединения обладают флуоресценцией с эффектом концентрационного тушения, что обуславливает возможность оценки эффективности выхода их из везикул во внешний раствор.

Исследовалось влияние внешних электрических полей на нанокompозитные везикулы с гидрофобизованными наночастицами золота в мембране и загруженные доксорубином. Для этого образцы растворов, содержащие данные везикулы, подвергались воздействиям импульсов электрического поля напряженностью порядка $2,25 \cdot 10^6$ В/м и длительностью порядка 10 нс. Затем проводилось измерение изменения интенсивности флуоресценции доксорубина.

Полученные экспериментальные данные указывают на выход доксорубина из липосом в результате импульсного электрического воздействия. Исследование образцов методом ПЭМ подтверждает происходящее при этом разрушение находившихся в растворе липосом.

Данный эффект можно объяснить значительным возрастанием локальной напряженности электрического поля вблизи проводящих золотых наночастиц, под действием импульсов внешнего электрического поля. Это может приводить к локальной электропорации липосомальных мембран вблизи частиц и разрушению липосомы с высвобождением содержимого.

Везикулы, в мембранах которых были локализованы наночастицы магнетита, восприимчивы не только к внешним электрическим полям, но и к действию внешних магнитных полей. Липидный бислой с локализованными в гидрофобной области гидрофобизованными наночастицами можно рассматривать как магнитоэластический материал.

Нами исследовалось воздействие внешних магнитных полей на липосомы, содержащие в мембранах гидрофобизованные наночастицы магнетита и загруженные карбоксифлуоресцеином. В течение одного часа раствор, содержащий данные липосомы, экспонировался в постоянном магнитном поле напряженностью 1,9 кЭ. Затем производилось измерение интенсивности флуоресценции образца.

Наблюдаемое изменение интенсивности флуоресценции карбоксифлуоресцеина указывает на переход красителя из везикул в раствор. Характеризация образцов методом ПЭМ указывает на изменение формы липосом со сферической на эллипсоидальную.

Теоретические расчеты на основе электростатической аналогии, а также численное решение уравнения Лапласа для сферического слоя феррожидкости во внешнем магнитном поле указывают на то, что форма вытянутого эллипсоида, направленного вдоль напряженности внешнего магнитного поля, является наиболее энергетически выгодной. Под действием внешнего магнитного поля липосомы меняют свою форму со сферической на эллипсоидальную. При этом мембраны везикул деформируются, что приводит к изменению их проницаемости для молекул красителя.

Обнаруженные нами эффекты открывают возможности для создания биомиметических коллоидных систем капсулирования лекарственных препаратов и нетермических методов их декапсуляции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-29-02080).

1. Гуляев Ю.В., Черепенин В.А., Вдовин В.А. и др. Дистанционная активация с помощью импульсного электрического поля нанокompозитных микрокапсул на основе комплексов липидов, полимеров и проводящих наночастиц // Журнал радиоэлектроники, 2014, № 11.

2. Khomutov G.B., Kim V.P., Koksharov Y.A. et al. Nanocomposite biomimetic vesicles based on interfacial complexes of polyelectrolytes and colloid magnetic nanoparticles // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2017, vol. 532.

К ВОПРОСУ ОБ ЭРОЗИИ ЗУБОВ ПО ДАННЫМ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА (РФА)

On the Issue of Tooth Erosion According to X-Ray Fluorescence Analysis

Прокопов А.А.^{1,2}, Митронин А.В.¹

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова
Минздрава РФ, г. Москва, РФ, pral@mail.ru

² Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, г. Москва, РФ

Физиологические девиации, приводящие к патологии, реализуются посредством сопряженных химических механизмов, которые по разным причинам претерпевают отклонения от стационарных параметров. Благодаря функционированию защитных систем организма, начальные этапы заболевания не ощущаются

человеком, клинические проявления болезни ещё отсутствуют. Поэтому ранняя диагностика заболеваний, отвечающая интересам, как пациента, так и врача, требует применения современных аналитических техник. Актуальность проблемы эрозии зубов в последние годы значительно возросла вместе с ростом распространённости этой патологии. Причины возникновения эрозии, под которой понимают прогрессирующую убыль тканей зубов (сначала эмали, затем дентина), многофакторны, они выяснены не в полной мере. Установить эти причины возможно только при наличии достоверной информации об изменении макро- и микроэлементного состава твёрдых тканей зубов, в первую очередь эмали. РФА (XRF) обеспечивает точность и достоверность экспериментальных исследований, современные спектрометры эффективно работают с твёрдыми материалами. Возможности использования РФА в интересах стоматологии уже показаны в ряде исследований [1,2].

Целью настоящей работы было проведение РФА эмали здоровых и эрозированных зубов с последующей оценкой качественных и количественных изменений элементного состава, сопровождающих развитие данного вида патологии. Микрорентгенофлуоресцентный элементный анализ выполняли на приборе Bruker "M4 TORNADO". В ходе работы использовали режимы MultiPoint (анализ в нескольких точках выбранной области поверхности образца эмали) и Line (исследование распределения элементов вдоль выбранной линии).

Ориентиром достоверности проведённого исследования служит относительно постоянная величина индекса Ca/P, которая для эмали составляет 1,6-2,1 (по массе) и служит критерием её резистентности по отношению к воздействию кислотных факторов. Величина этого индекса для исследованных образцов эмали здоровых зубов находилась в диапазоне 1,9-2,1. Микроэлементы, зарегистрированные спектрами РФА в обоих режимах, являются типичными для неповреждённой эмали по номенклатуре и по количественному содержанию. В режиме MultiPoint исследовали эмаль зубов, подверженных эрозии, в области неповреждённых участков, ниже и выше экватора и непосредственно в зонах поражения. Почти во всех случаях индекс Ca/P находился в пределах нормы. В то же время выявлен дисбаланс по микроэлементам в районах эрозии, тогда как здоровые участки эмали поражённых зубов по содержанию микроэлементов практически не отличались от средних норм. В некоторых зонах эрозии обнаружено повышенное содержание хлора, серы, стронция, калия, очень высокое содержание цинка, в отдельных случаях зарегистрировано присутствие меди и марганца на фоне нормального содержания кальция и резко пониженного фосфора. Уровень кремния и железа во всех случаях отвечал примерной норме. Цинк и медь являются мощными комплексообразователями, поэтому их присутствие может способствовать образованию растворимых комплексов как с неорганическими, так и органическими компонентами эмали, тем самым способствуя её деструкции [3]. Кроме того, избыточное содержание цинка задерживает рост костной ткани и нарушает её минерализацию, искажая метаболизм других микроэлементов. Отметим, что повышенное содержание стронция, цинка зарегистрировано в эмали зубов с повышенной стираемостью [4]. В 2007 году содержание серы в эмали зубов было количественно установлено методом лазерной масс-спектрометрии [5], хотя данные, полученные методом рентгеноспектрального микрозондового анализа, отличаются примерно на порядок [6]. Присутствие серы констатировалось, но пока никак не обсуждалось. Сера входит в состав множества биологически важных соединений, являющихся необходимыми элементами метаболических процессов, выполняющих, в том числе и защитные функции. Возможно, повышенное содержание серы в области эрозии указывает на мобилизацию организмом средств противодействия патологии.

1. Uo Motohiro, Wada Takahiro, Sugiyama Tomoko. Applications of X-ray fluorescence analysis (XRF) to dental and medical specimens // Japanese Dental Science Review, 2015, vol. 51, pp. 2-9.

2. Suci I., Preoteasa E.S., Preoteasa E.A. et al. Standardless x-ray fluorescence analysis of endodontic sealers using a portable spectrometer // Rom. J. Phys., 2015, no. 3-4, pp. 528-548.

3. Бельская Л.В., Голованова О.А. Экспериментальное исследование параметров слюны человека как минералообразующей среды // Вестник ОНЗ РАН, 2012, т. 4, NZ9001. doi: 10.2205/2012NZ_ASMPGE

4. Власова М.И., Киселёва Д.В. Изучение микроэлементного состава твёрдых тканей зубов человека по данным ИСП масс-спектрометрии с лазерной абляцией // Проблемы стоматологии, 2013, № 6, с. 4-7.

5. Крымова Т.Г., Балин В.Н., Колкутин В.В., Костицын Ю.А. Экспериментальные исследования элементного состава зубов методом ICP-MS в целях выявления возможностей использования его для диагностики медико-биологических признаков человека // Стоматология, 2007, № 1, с. 4-13.

6. Пихур О.Л., Щербакова А.Ю., Иванова М.В. и др. Особенности состава твёрдых тканей зубов и костного метаболизма у больных с хроническим пародонтитом // Научные ведомости. Серия Медицина Фармация, 2015, № 16 (213), вып. 31, с. 261-265.

ОПТИМИЗАЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРЕДРАКОВЫХ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Optimization of Physical and Chemical Parameters of Photodynamic Therapy of Precancerous and Oncological Diseases

Пурицхванидзе В.А. Гурьянова М.Ю. Сардарян Л.В.

Медицинский центр высоких технологий «ЛазерВита», г. Москва, РФ, violetta@laservita.ru

В настоящее время фотодинамическая терапия (ФДТ) является самым современным, высокотехнологичным методом лечения предраковых и онкологических заболеваний. ФДТ таких заболеваний как: дисплазия шейки матки, лейкоплакия, крауроз вульвы, болезнь Кейра, болезнь Боуэна, рак кожи и др., обеспечивает не только отличный терапевтический эффект, элиминацию ВПЧ, но и сохраняет целостность и архитектуру органа, а также обеспечивает отличный косметический результат.

Главным условием ФДТ является оптимизация физико-химических параметров, которые обеспечивают не только отсутствие осложнений, таких как ожоги, формирование рубцов, но и отвечает за хороший косметический результат. Основными физико-химическими показателями ФДТ являются: доза фотосенсибилизатора, лекарственно-световой интервал, площадь светового пятна (S), выходная мощность (P_в) плотность мощности (P_с), плотность энергии (E_с), и длительность облучения (T).

Длительность облучения ФДТ зависит от всех этих параметров. Главным фактором в проведении безболезненной и комфортной ФДТ является плотность мощности излучения. Плотность мощности также отвечает за осложнения после проведения ФДТ или их отсутствия, а также за обеспечения хорошего косметического результата.

Плотность Энергии при проведении ФДТ предраковых и онкологических заболеваний может составлять от 50 до 400 Дж/см². Но если P_с сеанса ФДТ будет высоким, начиная от 1 Дж/см², то пациент будет жаловаться на боль и жжение. Высокие параметры проведения ФДТ также приводят к термическим ожогам и к формированию рубцов, деформации органа, атрезиям, а также к снижению терапевтического эффекта и рецидивам заболевания.

Если при составлении протокола проведения ФДТ оптимизируются физико-химические параметры, и P_с будет составлять от 0,2 до 0,5 Дж/см², то ФДТ будет проходить безболезненно и с хорошим терапевтическим и косметическим эффектом.

Нами было проведено лечение методом ФДТ пациентов с разными предраковыми и онкологическими заболеваниями. В исследовании участвовало 500 пациентов в возрасте от 19 до 89 лет. ФДТ проводилось с использованием внутривенных фотосенсибилизаторов хлоринового ряда «Фотодитазин» или «Радахлорин» из расчета 0,8-1,2мг/кг. Лекарственно-световой интервал составлял от 2-х до 3-х часов. Плотность энергии лазерного облучения - 150-350 Дж /см². В качестве источника лазерного излучения использовались установки для фотодинамической терапии «Эломед» и «Милон» с длиной волны 662 нм. Выходная мощность лазера составляла от 0,5 до 3-х Вт. Плотность мощности от 0,2 до 0,4 Дж/см². Для подведения световой энергии применялись световоды с цилиндрическим диффузором и микролинзой на конце. Всем пациентам проводилась ФДТ в рамках одного сеанса. Оценка динамики проводилась через два месяца. Динамическое наблюдение пациентов составило более 5 лет.

Выводы: Оптимизированная ФДТ с низкой плотностью мощности приводит к лучшим результатам лечения, чем ФДТ с высокой плотностью мощности. Эффективность лечения составило 100% и у всех пациентов достигнут отличный косметический результат. ФДТ проводилась без дополнительного обезболивания и наркоза, что позволило обеспечить комфортное и щадящие проведения сеансов.

1. Станадко Е.Ф. и др. Оптимизация параметров фотодинамической терапии с хлориновыми производными // Российский биотерапевтический журнал, 2008, т. 2, № 2, с. 40.

СЕЛЕКТИВНАЯ ИНДУКЦИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА НА ПРИМЕРЕ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ JURKAT И МНК

Iron Oxide Nanoparticles Induce Selective Oxidative Stress in Jurkat Cells and PBMCs

Пшеничников С.Е., Омеляничик А.С., Родионова В.В., Левада Е.В.

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, РФ, SPshnikov@gmail.com

В настоящее время одним из самых распространённых заболеваний крови человека является острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ). ОЛЛ вызван неконтролируемой пролиферацией незрелых лимфоцитов в периферической крови и костном мозге, а также других органах человека. ОЛЛ, наиболее часто встречается в молодом возрасте (до 75–80% случаев). Таким образом, существует необходимость разработки терапевтических инструментов для избирательного воздействия на опухолевые клетки ОЛЛ. Перспективными материалами для противолейкозной терапии являются магнитные наночастицы (МНЧ) на основе оксидов железа, ввиду высокой

биосовместимости, а также широких возможностей для функционализации и модификации. Однако, в настоящее время, информация об особенностях взаимодействия МНЧ с клеточными структурами является неполной и противоречивой.

В данном исследовании использовались наночастицы магнетита (НЧМ, Fe_3O_4), со средним размером 9 ± 3 нм, полученные методом соосаждения. Моделью опухолевых клеток послужила клеточная линия Т-лимфобластного лейкоза (Jurkat). В качестве модели здоровых клеток использовались мононуклеарные клетки периферической крови человека (МНК), выделенные с помощью градиентного центрифугирования, из крови условно здоровых доноров. Культивирование клеток осуществлялось в питательной среде RPMI-1640 течение 24 ч, в концентрации 5×10^5 кл/мл, во влажной атмосфере, при 5% CO_2 и 37 °С. Концентрация НЧМ в питательной среде составляла 100 мкг/мл. Дополнительно, для стимуляции пермеабиллизации МНЧ в экспериментальные клетки использовалось постоянное магнитное поле (МП) различной напряжённости (0,26, 0,36 и 0,45 Т).

Тест жизнеспособности с использованием красителя WST-1 выявил снижение жизнеспособности клеток Jurkat после культивирования в питательной среде с добавлением НЧМ (рис. 1, Б1). Приложение МП индуцировало цитотоксическую активность НЧМ в клетках Jurkat (рис. 1, Б2). При этом не было обнаружено изменения жизнеспособности МНК (рис. 1, А1, А2). Анализ цитотоксических процессов методами проточной цитометрии (с окрашиванием дигидроэтидием) показал выраженный оксидативный стресс в клетках Jurkat (рис. 1, В1). Выявлено увеличение гранулярности клеточных субпопуляций Jurkat, что является результатом интернализации НЧМ (рис. 1, В2). Данный факт подтвердился последующим обнаружением скоплений внутриклеточного железа в экспериментальных клетках, с использованием красителя Прусского синего.

Таким образом, исследованные НЧМ индуцируют оксидативный стресс в клетках Jurkat, при этом не оказывая ингибирующего воздействия на клетки МНК. Данное селективное воздействие на опухолевые и здоровые клетки человека может быть использовано для разработки противолейкозной терапии на основе НЧМ.

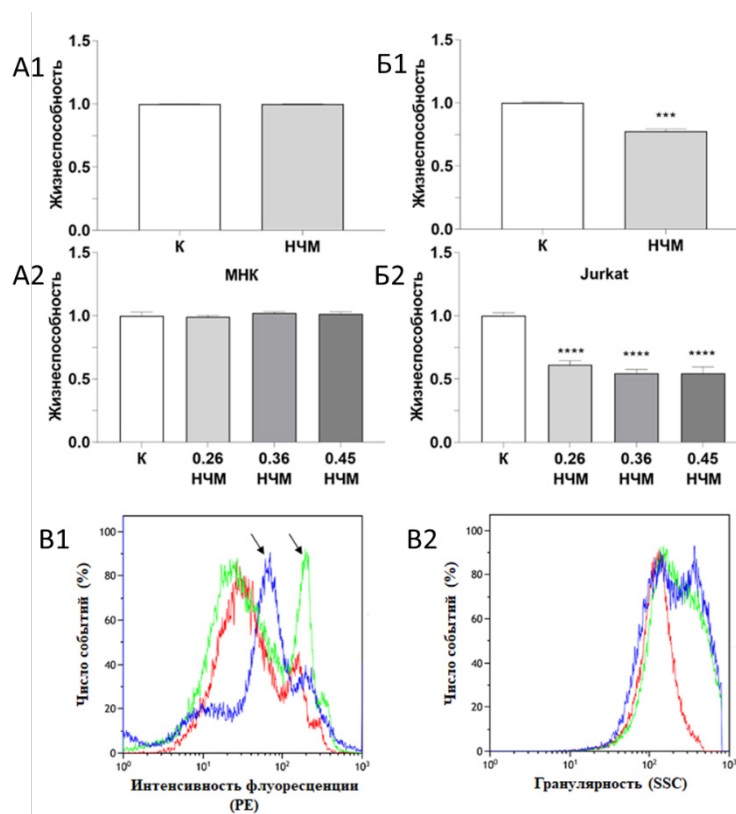


Рисунок 1. НЧМ ингибируют оксидативный стресс в клетках Jurkat, при этом не снижая жизнеспособность МНК. Показана жизнеспособность МНК и клеток Jurkat после 24 ч культивирования в присутствии 100 мкг/мл НЧМ в питательной среде (А1, Б1 соответственно), а также при приложении МП в качестве дополнительного фактора (А2, Б2 соответственно). Зарегистрированы позитивно окрашенные пики (показаны стрелками В1) флуоресценции в клетках Jurkat, свидетельствующие о возросшем оксидативном стрессе в экспериментальных клетках по сравнению с контролем. Значения данных для контроля, клеток после воздействия НЧМ, а также клеток, подвергшихся влиянию МП и НЧМ показаны красными, синими и зелёными линиями соответственно.

Представлены средние значения данных с указанием стандартной ошибки среднего и величиной статистической значимости (***) при $p \leq 0.01$, **** при $p \leq 0.001$)

КАТАЛИТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ КОМПОЗИТА ИЗ НАНОВОЛОКОН ОКСИДА АЛЮМИНИЯ И НАНОАЛМАЗОВ ПРИ ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ ИОНАМИ Fe^{2+} Cu^{2+}

Catalytic Effect of Alumina Nanofibers - Nanodiamonds Composite after Functionalization by Fe^{2+} and Cu^{2+}

Ронжин Н.О.¹, Посохина Е.Д.¹, Михлина Е.В.², Симунин М.М.³, Рыжков И.И.^{2,3}, Бондарь В.С.¹

¹ Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, roniol@mail.ru

² Институт вычислительного моделирования ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ

³ Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ

Разработка эффективных и простых в использовании инструментов обнаружения и мониторинга вредных и токсичных веществ является актуальной исследовательской задачей. Ранее мы получили новый композиционный материал на основе матрицы из нановолокон оксида алюминия и детонационных нанодIAMAZOV как сенсорного элемента, позволяющий детектировать фенол в водной среде [1]. Цель данной работы состояла в изучении возможности повышения каталитической активности и диагностической эффективности композита за счет его дополнительной функционализации ионами железа и меди.

В работе использовали модифицированные нанодIAMAZOV (МНА) [2] с высокой коллоидной стабильностью в водных суспензиях (средний размер кластеров $d_{50} = 55$ нм) и нановолокна оксида алюминия (ANF Technology, Эстония) диаметром 10–15 нм и длиной до нескольких микрометров. Композиционный материал в виде дисков получали по изложенной ранее схеме [1]. Для придания дискам структурной стабильности в водных растворах проводили их термообработку в интервале температур 200–600 °С. Образцы композита функционализировали с помощью адсорбции на их поверхность ионов Fe^{2+} и Cu^{2+} , икубуруя образцы в течение часа при 22 °С в водных растворах 25 мМ FeSO_4 и CuSO_4 и после этого трижды отмывая раствором 120 мМ NaCl .

Установлено, что образцы композита приобретают структурную стабильность в водных растворах после термообработки 300 °С и выше. Обнаружен интересный эффект – темно-серый композит, обработанный при 520 °С, приобретает белый цвет, что, вероятно, можно объяснить удалением неалмазного углерода МНА при данной температуре. В пользу этого свидетельствуют результаты термогравиметрического анализа и дифференциальной сканирующей калориметрии образцов композита, что максимум сгорания неалмазного углерода наблюдается при 560 °С. Продемонстрирована применимость имеющего белый цвет композита для визуальной качественной оценки наличия фенола в водных образцах (рис. 1а).

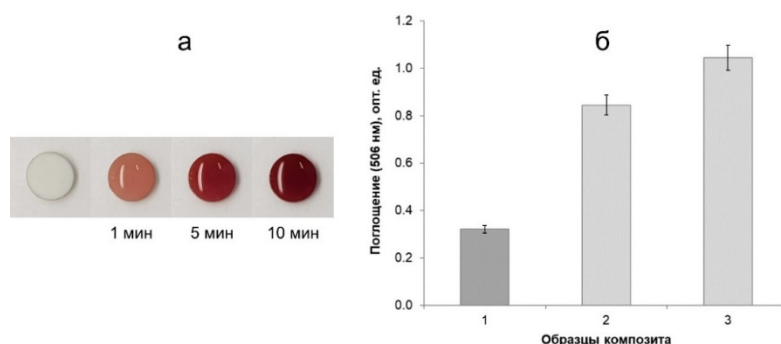


Рисунок 1. (а) Динамика образования цветного продукта при использовании композита для тестирования фенола в образце воды. (б) Образование продукта реакции, катализируемой разными образцами композита: 1 – исходный композит; 2 и 3 – композит, функционализированный ионами Cu^{2+} и Fe^{2+} , соответственно

В экспериментах показано, что ионы железа и меди адсорбируются на поверхность композита из водных растворов. Установлено, что эффективность реакции при тестировании фенола в водной среде композитами, функционализированными ионами Cu^{2+} и Fe^{2+} , значительно возрастает – в 2,6 и 3,2 раза, соответственно (рис. 1б).

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-29-19078 мк.

1. Ronzhin N.O., Posokhina E.D., Mikhlina E.V. et al. Production of a Composite Based on Alumina Nanofibers and Detonation Nanodiamonds for Creating Phenol Indication Systems // *Doklady Chemistry*, 2019, vol. 489, no. 1. doi: 10.1134/S001250081911003X

2. Puzyr A.P., Baron A.V., Purtov K.V. et al. Nanodiamonds with novel properties: a biological study // *Diamond and Related Materials*, 2007, vol. 16, no. 12. doi: 10.1016/j.diamond.2007.07.025

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ Restoring of Erythrocytes Functional Properties

Руденко Т.В., Демкин В.П., Мельничук С.В., Удут В.В.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, rudenko@ido.tsu.ru

Состояние мембраны эритроцитов, как и мембраны любой другой клетки, является важнейшим фактором, обеспечивающим биохимические и физиологические процессы, регулирование гомеостаза в организме. Лабильность морфофункциональных характеристик мембран эритроцитов влечет изменение их реологических свойств (деформируемость, агрегационная активность) [1-3], влияя на микроциркуляцию крови и запуская в условиях гипоксии метаболические, функциональные, морфологические нарушения в организме. Доказано, что изменение реологических свойств эритроцитов является одним из важных патогенетических факторов в формировании и усугублении множества заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых [4-6].

Поэтому изучение эритроцитов, в особенности, состояния их мембран, поверхностного заряда, остается актуальным для ранней диагностики сосудистых изменений, коррекции текучести крови по сосудам, предотвращая нарушения работы жизненно важных органов.

Основные усилия по восстановлению функционального статуса клеточных мембран в условиях различных патологических состояний сосредоточены на применении препаратов, обладающих мощными антиоксидантными свойствами [7]. Однако, несмотря на достаточно выраженный положительный эффект, ряд ограничений снижает возможность широкого использования данных препаратов в клинической практике, особенно у пациентов гематологического профиля.

Особый интерес для восстановления метаболизма эритроцитов представляет экзогенный подход, в основе которого лежит механизм воздействия на клеточные структуры физическими факторами (физические поля и биологически активные частицы).

Одним из методов восстановления нарушенных функций эритроцитов является воздействие газоразрядной плазмы. В качестве источника излучения нами используется низкотемпературная плазма на основе нестационарного слаботокового электроискрового плазмотрона [8]. Плазменные струи формируются на выходе электродной системы в условиях, когда газ проходит через область плазмы разряда. На сегодня – это актуальное направление медицины, посвященное изучению механизмов взаимодействия плазмы с клеточными структурами и демонстрирующее ряд значимых эффектов: изменение проницаемости клеточных мембран, возбуждение клеток, стимуляция пролиферации клеток и регенерации тканей.

В данной работе проведено численное исследование динамики электрофизических и термодинамических характеристик азотсодержащей плазмы атмосферного давления в тлеющем разряде после искрового пробоя.

Построенная численная модель разряда и результаты расчета позволят в дальнейшем проводить анализ протекающих плазмохимических процессов, приводящих к образованию химически активных компонентов и их влияния на биологические объекты. Возможность управления физическими характеристиками разряда позволит регулировать и биологические ответы, определяя наиболее оптимальный для восстановления вязкоупругих свойств мембраны эритроцита.

1. Голубева М.Г. Осмотическая резистентность эритроцитов, методы определения и коррекции, значение при различных патологиях // Успехи современной биологии, 2019, т. 139, № 5, с. 446-456.

2. Медведев И.Н., Савченко А.П., Завалишина С.Ю. и др. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях // Российский кардиологический журнал, 2009, № 5 (79), с. 42-45.

3. Патофизиология: учебник: в 2 т. / под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой. – 4-е изд., перераб. и доп. – ГЭОТАР-Медиа, 2009, Т. 1. 848 с.

4. Подзолков В.И., Королева Т.В., Писарев М.В. и др. Нарушения микроциркуляции и функционального состояния эритроцитов как фактор сердечно-сосудистого риска при метаболическом синдроме // Рациональная фармакотерапия в кардиологии, 2018, т. 14 (4), с. 591-597.

5. Ажермачева М.Н., Плотников Д.М., Алиев О.И. и др. Реологические свойства крови в острейший период ишемического инсульта и их взаимосвязь со степенью тяжести неврологических нарушений // Бюллетень сибирской медицины, 2013, т. 12, № 5, с. 5-12.

6. Шаманаев А.Ю., Алиев О.И., Анищенко А.М. и др. Синдром повышенной вязкости крови у больных артериальной гипертензией и гемореологические эффекты антигипертензивных средств // Российский кардиологический журнал, 2016, № 4 (132), с. 97-102.

7. Молчанова О.В., Кочкаров В.И., Покровский М.В. и др. Фармакологические эффекты альфа-липоевой (тиоктовой) кислоты // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация, 2012, № 22-3 (141), с. 24-29.

8. Demkin V.P., Melnichuk S.V., Demkin O.V. et al. Spectroscopic studies of non-thermal plasma jet at atmospheric pressure formed in low-current nonsteady-state plasmatron for biomedical applications // Physics of Plasmas, 2016, vol. 23, no. 4, pp. 043509. doi: 10.1063/1.4946882

СТРУКТУРЫ Фуллерен[60]-(ЦИАНИНОВЫЙ КРАСИТЕЛЬ) ДЛЯ ФОТОТЕРАНОСТИКИ Fullerene[60]-(Cyanine Dye) Structures For Phototheranostics

Рыбкин А.Ю., Горячев Н.С., Козлов А.В., Белик А.Ю., Костина Е.А., Котельников А.И.

Институт проблем химической физики РАН, г. Черноголовка, РФ, alryb@icp.ac.ru

В настоящий момент активно развивается направление фототераностики – комбинации методов фотодинамической терапии (ФДТ), эффективного неинвазивного метода лечения онкологических заболеваний и метода флуоресцентной диагностики. Основную роль в данном методе играет препарат-фотосенсибилизатор (ФС), который при возбуждении светом генерирует высокотоксичные активные формы кислорода. Комбинацией локального облучения опухоли и избирательного накопления ФС достигается высокая селективность действия ФДТ, а наличие выраженного сигнала флуоресценции позволяет четко определять локализацию и границы опухоли. Сейчас во всем мире ведется активный поиск более эффективных препаратов для фототераностики. Одним из способов создания высокоэффективных ФС является создание структур фуллерен-краситель.

Активная работа по созданию структур фуллерен-краситель ведется как в области фотовольтаики, так и для применения их в фотодинамической терапии рака [1]. Однако опубликовано весьма небольшое количество работ, в которых было бы описано создание диад фуллерена с красителем, имеющим выраженное поглощение в ближней ИК области спектра. Данная область спектра привлекательна с точки зрения применения подобных структур в биомедицинских приложениях – фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики, т.к. в этой области спектра живые ткани обладают наибольшей прозрачностью.

Нами был синтезирован ряд ковалентно-связанных структур, в которых фуллерен C_{60} был соединен линкером с различными производными класса цианиновых красителей, обладающих выраженным поглощением в красной и ближней ИК областях спектра. Для данных диад отмечено слабое влияние ядра фуллерена на фотофизические свойства красителя в составе данных диад, что выражается в слабом тушении интенсивности флуоресценции. Известно, что фуллерен выступает крайне эффективным тушителем флуоресценции, что существенно затрудняет использование метода флуоресцентной диагностики для анализа биологической активности производных фуллерена. Диады фуллерен-краситель подобного типа могут быть интересны с точки зрения создания средств для клеточной визуализации и флуоресцентной диагностики различных структур на основе фуллеренов и оценке их биологической активности.

В то же время нами были исследованы фотофизические свойства и фотохимическая активность нековалентных комплексов производных фуллерена с цианиновыми красителями в водном растворе – аналогов структур фуллерен[60]-(ксантеновый краситель), описанных в работе [2]. Было обнаружено, что такие комплексы способны эффективно генерировать супероксид анион-радикал при возбуждении светом в ближней ИК области спектра (~750 нм). При этом показано, что исходные производные фуллерена и красители не обладают способностью генерировать активные формы кислорода при возбуждении светом в данной области спектра. Таким образом, на примере нековалентных комплексов была продемонстрирована принципиальная возможность создания фотоактивных структур фуллерен[60]-(цианиновый краситель) для применения в фотодинамической терапии.

Исследования выполнены в рамках госзадания (номер госрегистрации А19-119112590105-7) и при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 20-74-00107).

1. Rybkin A.Y., Belik A.Y., Goryachev N.S. et al. // *Dyes and Pigments*, 2020, vol. 180, p. 108411. doi: 10.1016/j.dyepig.2020.108411

2. Belik A.Y., Rybkin A.Y., Voronov I.I. et al. Non-covalent complexes of polycationic fullerene C_{60} derivative with xanthene dyes – Spectral and photochemical properties in water and in liposomes // *Dyes and Pigments*, 2017, vol. 139. doi: 10.1016/j.dyepig.2016.11.025

MACHINE LEARNING FOR PREDICTING THE SURFACE PLASMON RESONANCE OF SILVER NANOSPHERES

Samantha Ramos Esparaza, Jesús Andrés Arzola Flores, Esmeralda Vidal Robles, Adrián Apolinar Hernández Santiago

Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico, jesus.arzola@correo.buap.mx

It is well known that silver nanoparticles (AgNP) have interesting optical properties, including surface plasmon resonance (SPR) [1]. This property can be tuned through the modification of the morphological properties of AgNPs, which in turn depend to a great extent on the synthesis technique used [2]. Knowing the wavelength at which the SPR is presented is of vital importance not only to characterize the AgNPs but also to identify possible fields of application [3].

At present it is possible to use different theoretical-numerical tools to study the effect of morphology on the position of the SPR, among them is the Mie theory, which allows studying the interaction between electromagnetic radiation and

spherical particles [4]. However, on many occasions, the use of Mie theory to determine the optical efficiencies of nanoparticles is computationally expensive, so it is necessary to use more efficient tools to study their optical properties.

In the present work, a methodology for predicting the dipole SPR of spherical AgNPs as a function of their diameter is shown. For this, the extinction efficiency of AgNPs with different diameters was calculated using the DDSCAT software [5,6]. These extinction spectra were used to train two supervised learning models (a Lasso regression and a Ridge regression) for the prediction of SPR [7,8]. The results allow predicting the dipole SPR with an accuracy of better than 90%.

1. Evanoff Jr. D.D., Chumanov G. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays // *ChemPhysChem*, 2005, vol. 6 (7), pp. 1221-1231.
2. Mulfinger L., Solomon S.D., Bahadory M. et al. Synthesis and study of silver nanoparticles // *Journal of chemical education*, 2007, vol. 84 (2), p. 322.
3. Mahmudin L., Suharyadi E., Utomo A.B.S., Abraha K. Optical properties of silver nanoparticles for surface plasmon resonance (SPR)-based biosensor applications // *Journal of Modern Physics*, 2015, vol. 6 (08), p. 1071.
4. Wriedt T. Mie theory: a review // *The Mie Theory*, 2012, pp. 53-71.
5. Draine B.T., Flatau P.J. Discrete-dipole approximation for periodic targets: theory and tests // *J. Opt. Soc. Am. A*, 2008, vol. 25, pp. 2593-2703.
6. Flatau P.J., Draine B.T. Fast near field calculations in the discrete dipole approximation for regular rectilinear grids // *Opt. Express*, 2012, vol. 20, pp. 1247-1252.
7. Arzola-Flores J.A., González A.L. Machine Learning for Predicting the Surface Plasmon Resonance of Perfect and Concave Gold Nanocubes // *The Journal of Physical Chemistry C*, 2020, vol. 124 (46), pp. 25447-25454.

GLIOBLASTOMA GROWTH COMPUTATIONAL SIMULATION: A MINIMAL MODEL OF MULTISCALE ANGIOGENESIS

Rodríguez-Meza M.A., Morales M.A., Cervantes-Tavera A.M., Hernández-Santiago A.A.
Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico

It is important to know the dynamics of cancer cell growth in order to propose new in-silico research methodologies to understand the underlying mechanisms. This future knowledge could help improve current brain cancer treatment techniques. Mathematical models of tumor growth try to represent, through functions and laws, the complex mechanisms of oncogenesis. In this research work, a multiscale mathematical model of angiogenesis is proposed based on the continuous Proliferation Invasion Hypoxia Necrosis Angiogenesis (PIHNA) model. The new model considers the production and consumption of angiogenic factors, cell diffusion, chemotaxis and macroscopic tissue processes such as tumor invasion and growth.

The reaction-diffusion equations of the proposed model are the following:

$$\frac{\partial g}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_g \nabla g)}_{\text{Difusión}} + \underbrace{\rho_g g (1 - T)}_{\text{Proliferación}} + \underbrace{(\theta_{mg} H_{mg}) m - (\theta_{gm} H_{gm}) g}_{\text{Cambio de fenotipo}} \quad (1)$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_m \nabla m)}_{\text{Difusión}} + \underbrace{\rho_m m (1 - T)}_{\text{Proliferación}} \quad (2)$$

$$\frac{\partial a}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_a \nabla a)}_{\text{Difusión}} + \underbrace{\rho_{am} m}_{\text{Producción}} - \underbrace{\gamma v}_{\text{Consumo}} \quad (3)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (\chi v \nabla a)}_{\text{Quimiotaxis}} + \underbrace{\rho_v v m (1 - N)}_{\text{Proliferación}} - \underbrace{(\theta_{vN} H_{vN}) v}_{\text{Muerte celular}} \quad (4)$$

g (cell/cm³) is the proliferating cell density, m (cell/cm³) is the invasive cell density, a (mol/cm³) is the concentration of angiogenic factors and v (cell/cm³) is the vascularization density. From these variables, the total tumor density T can be defined such that: $T=g+m$. The terms of Eq. (1) take into account respectively: the cellular diffusion of proliferating cell, the cell proliferation due to the tumor growth and the phenotype change from one population to another that is mediated by the local availability of oxygen. This change is controlled by the Heaviside function such that: $H_{mg}=1$ if there is hypoxia and $H_{mg}=0$ if there is not hypoxia. So: $H_{gm}=1-H_{mg}$. While the terms of Eq. (2) only considers the cellular diffusion and the cell proliferation of the invasive cells. At this point, two cases are distinguished regarding the diffusion between g and m : when invasive cells are capable of greater mobility than proliferative cells ($D_m > D_g$), and vice versa ($D_m < D_g$). The terms of Eqs. (3) and (4) modeling that: Invasive m cells produce angiogenic factors a , which attract

endothelial cells v by chemotaxis. As a consequence, vascular density increases. To avoid introducing another non-linear term, we assume that the consumption of angiogenic factors by endothelial cells occurs at a constant ratio γ , where $H_{vN}=1$ if there is hypoxia and $H_{vN}=0$ if there is not hypoxia. Nevertheless, γ can be a function of a , m , or both. Also, the Eqs. (3) and (4) considers the chemical diffusion of concentration of angiogenic factors and the proliferation of invasive cells.

The numerical simulation results show evidence of glioblastoma growth inhibition in at least one case for the control parameter values of Table 1. The model presents a situation under which the growth of a brain tumor is viable, which is promising for new methods or treatments of this type of brain pathology.

1. De la Garza-Salazar F., Lankenau-Vela D.L., Cadena-Nuñez B., González-Cantú A., Romero-Ibarguengoitia M.E. The effect of functional and intra-coronary imaging techniques on fluoroscopy time, radiation dose and contrast volume during coronary angiography // Scientific reports, 2020, vol. 10 (1), pp. 1-8.

2. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation // Cell, 2011, vol. 144 (5), pp. 646-674.

3. Deisboeck T.S., Zhang L., Yoon J., Costa J. In silico cancer modeling: is it ready for prime time? // Nature Clinical Practice Oncology, 2009, vol. 6 (1), pp. 34-42.

4. Deisboeck T.S. Personalizing medicine: a systems biology perspective, 2009.

5. Ortiz Pla J. Development and implementation of a multiscale mathematical model of growth of glioblastoma and radiotherapy, initialized from magnetic resonance imaging (Doctoral dissertation), 2017.

A POSSIBLE ROLE OF SALT-INDUCED INTERMEDIATES IN THE LIQUID-LIQUID PHASE TRANSITIONS OF GLOBULAR PROTEIN DISPERSIONS

Rozhkov S.P.

Institute of Biology, Karelian Research Center RAS, Petrozavodsk, Russia, rozhkov@krc.karelia.ru

Liquid-liquid (L-L) type phase transitions in water-salt dispersions of native (N^* , N) globular proteins in the temperature range between thermal (D^*) and cold (D) denaturation has been considered. This builds on our prior description of the role of protein/salt concentration ratio and the corresponding values of both protein and solvent water chemical potentials in the formation of protein clusters at any given temperature [1, 2]. Protein intermediates (I , I^*) arising as a result of the ion non-equilibrium (de)sorption in the process of $D \leftrightarrow N$ and $D^* \leftrightarrow N^*$ transitions are assumed to be involved in the L-L micro-phase transition forming clusters and fibrils in the main phase of N and N^* proteins [3]. Thus, they compensate for their excess chemical potential caused by unbalanced distribution of adsorbed salt ions in protein structure as compared to N protein. Temperature dependences have been described for the chemical potentials ($\Delta\mu^i$) of various states of the protein: low-temperature $i = D, N, I$ and high-temperature $i = D^*, N^*, I^*$, as well as for the transition between them. The chemical potential of the substance μ decreases with rising temperature at constant pressure, since $(\partial\mu/\partial T)_p = -S$, the entropy S being positive. This allows presenting qualitatively the behavior of the chemical potentials of various protein states μ^i , where $i = D, D^*, N, N^*, I, I^*$. Figure 1 shows a qualitative phase diagram in which N and N^* protein states are most stable (μ^N and μ^{N^*} are lower), and D and D^* states are least stable (μ^D and μ^{D^*} are higher) in the temperature range between $N \leftrightarrow D$ and $N^* \leftrightarrow D^*$ transition points (T_1 and T_6 , respectively). We assume that the chemical potentials of the various protein states change with increasing temperature. There are regions near optimal temperatures for cluster formation (T_2 and T_5), where the most significant difference in the potentials of the N and I as well as N^* and I^* states (Figure 1) occurs. Instability and interactions between macromolecules can increase in these regions, leading to L-L phase transitions and clustering of the molecules with higher chemical potential.

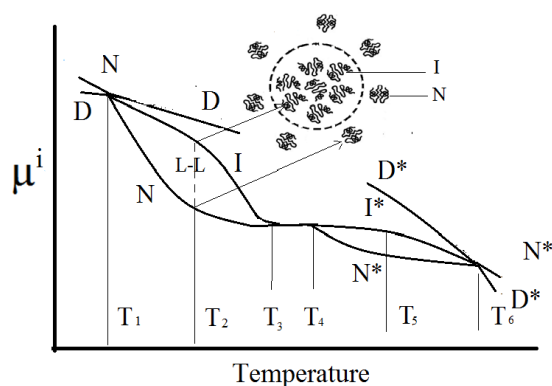


Figure 1. Temperature dependences of chemical potentials μ^i of various protein conformers ($i = D, D^*, N, N^*, I, I^*$). T_1 and T_6 are $N \leftrightarrow D$ and $N^* \leftrightarrow D^*$ transition points; T_2 and T_5 are optimal temperatures for cluster formation; T_3 and T_4 are critical phase transition points between the phases of native protein and clusters of intermediates, which are also upper and lower critical solution temperatures (UCST and LCST), respectively. There is a supercritical macroscopically single-phase region between T_3 and T_4

The temperature dependence of the solvent chemical potential $\Delta\mu_1$, as well as the relationship between the extreme values of $\Delta\mu_1$ and upper and lower critical solution temperatures (UCST and LCST) of L-L phase transitions has been described on this basis. The phase diagram allows taking into account the presence of oligomers, amorphous and fibrillar aggregates, and gel states in the protein dispersion. This can cause a substantially nonideal behavior of osmotic pressure in the temperature range between cold and heat denaturation. The diagram also allows predicting reentrant phase transitions in protein dispersion.

1. Rozhkov S.P., Goryunov A.S. Thermodynamic study of protein phases formation and clustering in model water-protein-salt solutions // *Biophys. Chem.*, 2010, vol. 151, no. 1-2, p. 22. doi: 10.1016/j.bpc.2010.04.007

2. Rozhkov S.P., Goryunov A.S. Stable, metastable, and supercritical phases in solutions of globular proteins between upper and lower denaturation temperatures // *Biophysics*, 2017, vol. 62, no. 4, p. 539. doi: 10.1134/S0006350917040182

3. El-Baba T.J. et al. Long lived intermediates in a cooperative two-state folding transitions // *J. Phys. Chem. B*, 2016, vol. 120, no. 47, p. 12040. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b08932

ВЗАИМОСВЯЗЬ ХИРАЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ИХ БИОАКТИВНОСТИ

Relationship between Chirality and Bioactivity of Drugs

Семенова Е.В., Малышко Е.В., Твердислов В.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, k.semenova99@gmail.com

Симметричность как явление, связанное с гомохиральностью мономеров, составляющих важнейшие классы биомакромолекул, имеет фундаментальное значение не только для всей молекулярной биологии как системный фактор ее организации, но, по-видимому, и для фармакологии, также как системный фактор стереоспецифичности лекарств. Хиральность – свойство объекта быть несовместимым со своим зеркальным отображением при любых комбинациях перемещений и вращений в трехмерном пространстве [1] – играет важную роль и в фармакологии, так как больше половины используемых в настоящее время лекарственных средств являются хиральные препараты, а, в свою очередь, большая часть этих хиральных лекарств представляет собой рацемат [2]. Хиральное вещество, проникая в живой организм, вступает во взаимодействие с его асимметричными молекулами. Данные взаимодействия определяют действие препарата на организм: одна форма лекарственного средства может обладать терапевтическим эффектом, а другая может не усваиваться, быть менее активной или оказывать совершенно другое действие, которое может быть как желательным, так и нежелательным для организма. Именно поэтому важно учитывать знак хиральности лекарственного средства при его разработке.

Развиваемая в настоящей работе концепция относится к актуальным направлениям биофизики. Выяснение природы хирально-иерархической структуры биомакромолекул-мишеней и симметричной структуры лекарственных препаратов направлено на установление системности хиральных соответствий лекарств и мишеней.

Целью работы является выявление закономерностей хиральной специфичности энантиомеров лекарственных препаратов разных классов. Нами впервые была целенаправленно составлена и проанализирована подборка из ста лекарственных средств. Была произведена классификация препаратов по биоактивности R- и S-форм, биоактивности (+)- и (-)-форм, типу лекарственного средства, мишени воздействия. Проведенный анализ лекарственных препаратов с позиции хиральности позволил установить, какая из форм лекарственных средств чаще оказывает терапевтическое воздействие. Также в работе были определены наиболее часто встречающиеся типы лекарственных средств для «правых» и «левых» препаратов. Кроме этого, для рассматриваемых препаратов были определены их мишени воздействия.

Настоящая работа является поисковой и феноменологический уровень исследования предполагает дальнейшее понимание симметричных основ молекулярных машин: ферментов, рецепторов аллостерической регуляции, так как именно лекарства являются одними из регуляторов молекулярных машин с точки зрения биофизики. В перспективе, нам предстоит выяснить соответствие между активными формами хиральных лекарств и знаками хиральности структур разного уровня биомакромолекул, являющихся непосредственными мишенями препаратов. Систематизированные в данной работе по знаку хиральности данные по сотне лекарств дают возможность развивать данное направление биофизической фармакологии для несравненно более успешного конструирования лекарственных препаратов.

1. Compendium of Chemical Terminology [Электронный ресурс]. *International Union of Pure and Applied Chemistry*. URL: <https://goldbook.iupac.org/> (дата обращения: 20.05.2021).

2. Nguyen L.A., He H., Pham-Huy C. Chiral drugs: an overview. *International journal of biomedical science: IJBS*, 2006, vol. 2, no. 2, pp. 85-100.

ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ КИШЕЧНОЙ СТЕНКИ ПРИ ОТСРОЧЕННОМ НАЛОЖЕНИИ АНАСТОМОЗА

Multimodal Optical Coherence Tomography in Studying the State of the Intestinal Wall in Delayed Anastomosis

Сизов М.А.¹, Рябков М.Г.², Бедерина Е.Л.², Моисеев А.А.³, Гладкова Н.Д.², Киселева Е.Б.²

¹ Городская клиническая больница № 30, г. Нижний Новгород, РФ, sizov.mikhail2015@yandex.ru

² Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, РФ

³ Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, РФ

В большинстве клинических случаев у пациентов с острой мезентериальной ишемией первичная операция резекции не может быть завершена наложением энтероанастомоза, общепризнанная тактика предполагает более или менее длительное нарушение непрерывности кишечника [1]. Вопросы о том, какая хирургическая тактика обработки культи резецированной кишки наиболее приемлема в межоперационном периоде до наложения отсроченного анастомоза остается предметом дискуссии [2]. Также, актуальным является поиск методов оценки микроструктуры кишечной стенки, поскольку факторы достаточного кровоснабжения тканей и одинаковой толщины сопоставляемых концов являются решающими для состоятельности анастомоза.

Целью данного исследования являлась оценка микроструктуры и микроциркуляции кишечной стенки при отсроченной наложении анастомоза с помощью мультимодальной оптической когерентной томографии (ММ ОКТ). Исследование проведено на трех группах крыс линии Wistar массой от 270 до 435 г (самцы, n=18). Всем животным моделировали острую окклюзионную артериальную ишемию тонкой кишки, через 80-90 мин резецировали ишемизированный нежизнеспособный участок кишки и завершали операцию выведением стомы (группа 1, n=6), наложением кيسетных швов (группа 2, обструктивная резекция, n=6), или внутренним дренированием приводящего и отводящего концов тонкой кишки (группа 3, шунтирование, n=6). Через 2 суток выполняли релапаротомию и формирование анастомоза. На каждом этапе хирургического вмешательства был применен метод ММ ОКТ (Институт прикладной физики РАН, Россия), исследование проведено со стороны серозной оболочки тонкой кишки. В режиме кросс-поляризационной ОКТ изучена микроструктура (слои) кишечной стенки, в режиме оптической когерентной ангиографии визуализировано интрамуральное кровообращение. Полученные данные оценены визуально и количественно, сопоставлены с гистологическим исследованием.

Установлено, что хирургическая техника обработки культи кишки после ее экстренной резекции по поводу острой мезентериальной ишемии существенно меняет состояние тканей в период до наложения отсроченного анастомоза. Стомирование кишки сопровождается ишемическими явлениями и снижением тонуса сохранившихся перфузируемых сосудов, выраженным отеком и частичным разрушением слизистого слоя и мезотелия серозной оболочки. Обструктивная резекция кишки с погружением ее концов в брюшную полость ассоциирована с менее значимыми нарушениями микроциркуляции, однако сопряжена с неравномерно выраженными дисциркуляторными явлениями в приводящем и отводящем отделах кишки и с нарушением микроструктуры кишечной стенки (выраженным отеком серозной оболочки, разрушением эпителия поверхностной части одиночных ворсин). В результате через 2 суток наблюдаются диспропорциональные изменения в отделах кишки после обструктивной резекции, что может стать причиной осложненного заживления анастомоза. Наименее выраженные и наиболее сбалансированные изменения происходят в приводящем и отводящем концах кишки в случае ее шунтирования. Однако для рекомендации этого вида хирургической техники для преимущественного применения необходима разработка надежных, безопасных и эффективных инструментов шунтирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 19-75-10096.

1. Adaba F., Rajendran A., Patel A. et al. Mesenteric Infarction: Clinical Outcomes after Restoration of Bowel Continuity // *Annals of Surgery*, 2015, vol. 262, no. 6. doi: 10.1097/SLA.0000000000001100

2. Acosta-Mérida M.A., Marchena-Gómez J., Saavedra-Santana P. et al. Surgical Outcomes in Acute Mesenteric Ischemia: Has Anything Changed Over the Years? // *World Journal of Surgery*, 2020, vol. 44, no. 1. doi: 10.1007/s00268-019-05183-9

ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ В НЕИЗООСМОТИЧЕСКОЙ СРЕДЕ

Purinergic Regulation of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells Contractile Activity in Nonosmotic Medium

Смаглий Л.В., Гусакова В.С., Бирулина Ю.Г., Голованов Е.А., Гусакова С.В.
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, РФ, lud.smagly@yandex.ru

Исследование проводили на изолированных деэндотелизированных кольцевых сегментах легочной артерии (ЛА) крыс – самцов линии Wistar. Величину механического напряжения измеряли методом механографии с помощью четырехканальной системы для проведения электрофизиологических исследований Myobath II. Сегменты ЛА инкубировали в нормальном растворе Кребса. Сократительные ответы получали путем эквимольного замещения 15 мМ NaCl на KCl. Далее в зависимости от целей эксперимента использовали физиологический раствор с добавлением тестируемых растворов и соединений. Амплитуду сократительных ответов рассчитывали в процентах от амплитуды сокращения на гиперкалиевый раствор Кребса, который принимали за 100%. Для исследования сократительной активности сегментов в модели гипоосмотического набухания сегменты помещали в раствор с концентрацией NaCl равной 40 мМ. Изоосмотическую стрижку вызывали восстановлением ионного состава раствора после 60-минутной инкубации сегментов в гипоосмотической среде, содержащей 40 мМ NaCl. Для получения гиперосмотического сокращения готовили гиперосмотический раствор путем добавления 120 мМ сахарозы в нормальный раствор Кребса (120 мМ NaCl). При действии на базальный тонус сегментов легочной артерии крысы АТФ индуцирует развитие низкоамплитудных (в сравнении с сокращениями в ответ на гиперкалиевый раствор) транзиторных сократительных реакций, амплитуда которых снижалась в присутствии ингибитора Na⁺,K⁺,2Cl⁻-котранспорта (NKCC) буметанида. Помещение сегментов легочной артерии в гипоосмотический раствор (40 мМ NaCl) приводило к развитию транзиторного сократительного ответа амплитудой 69,5 (65,3; 85,4) % и длительностью 32,5 (30,0; 39,0) мин (n=11) от контрольного гиперкалиевого сокращения. АТФ (500 мкМ) не влиял на величину сокращения в гипоосмотической среде, но устраняет транзиторность гипоосмотической стрижки: в присутствии АТФ гипоосмотическое сокращение носило поддерживаемый характер. Предобработка сегментов легочной артерии ингибитором NKCC буметанидом (100 мкМ), неселективным блокатором Cl⁻ каналов SITS (100 мкМ) и блокатором нифлумовой кислотой Ca²⁺-чувствительных Cl⁻ каналов нифлумовой кислотой (10 мкМ) восстанавливала транзиторный характер гипоосмотической стрижки в присутствии АТФ. Восстановление осмолярности среды (120 мМ NaCl) после инкубации в гипоосмотическом растворе (40 мМ NaCl) приводило к развитию транзиторного сокращения амплитудой 59,6 (50,7; 67,3) % от контрольного гиперкалиевого (15 мМ KCl) сокращения и длительностью 42,5 (35,8; 55,0) мин (n=11). АТФ (500 мкМ) полностью подавлял развитие изоосмотической стрижки. Ингибитор NKCC буметанид (100 мкМ) не оказывал статистически значимого влияния на действие АТФ при изоосмотической стрижки. Однако ингибиторы Cl⁻ каналов SITS (100 мкМ) и нифлумовая кислота (10 мкМ) устраняли ингибирующее действие АТФ на изоосмотическую стрижку: наблюдалось увеличение МН напряжения сегментов до 19,4 (16,8; 21) % и 14,7 (13,2; 16,9) %, соответственно. При этом длительность изоосмотической стрижки статистически значимо не изменялась (p>0,05).

Таким образом, при действии на базальный тонус деэндотелизированных сегментов легочной артерии крысы АТФ индуцирует развитие низкоамплитудных (в сравнении с сокращениями в ответ на гиперкалиевый раствор и фенилэфрин) транзиторных сократительных реакций. АТФ не влияет на величину сокращения в гипоосмотической среде, но устраняет транзиторность гипоосмотической стрижки, которая восстанавливается в присутствии ингибиторов NKCC и Cl⁻ каналов. АТФ подавляет развитие изоосмотической стрижки. Ингибирующее действие АТФ на изоосмотическую стрижку частично устраняется блокаторами Cl⁻ каналов, но не ингибитором NKCC.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, договор №18-44-700009\20.

ВЛИЯНИЕ КОРОТКОВОЛНОВОГО УФ-СВЕТА (254 НМ) НА ЦИТОАРХИТЕКТониКУ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ДОНОРОВ Cytoarchitectonics and Spectral Characteristics Donors Blood Erythrocytes after Influence of the UV-Light (254 nm)

Соколова Л.О., Путинцева О.В., Артюхов В.Г.
Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ, lyudmila.sokolova.94@mail.ru

Для результативного купирования гипоксических состояний, имеющих место при многих сердечно-сосудистых заболеваниях, используют метод аутотрансфузии УФ-облученной крови (АУФОК-терапия). Для этого применяют коротковолновое УФ-излучение с длиной волны 254–256 нм. Остается открытым вопрос об

изучении фотопроцессов, протекающих в эритроцитах при фототерапии, что имеет фундаментальное значение для решения круга практических задач [1].

Эритроциты из свежесобранной крови доноров получали по стандартной методике [2]. УФ-облучение с $\lambda_{\max}=254$ нм суспензий клеток проводили с помощью облучателя Bio-Link-BLX (Vilber Lourmat, Франция) в дозах 300, 750 и 2270 Дж/м². Поверхностную архитектуру эритроцитов крови доноров изучали на сканирующем электронном микроскопе JEOL JSM 6380-LV (Япония) при ускоряющем напряжении 20 кВ на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета. URL: <http://ckp.vsu.ru>. Для детального анализа характера изменения поверхностной архитектуры эритроцитов рассчитывали ряд показателей (в процентах): количество дискоцитов (Д); количество обратимо деформированных эритроцитов (ОД); количество необратимо деформированных эритроцитов (НД), а также индекс трансформации, представляющий собой количественную оценку соотношения патологических и нормальных форм эритроцитов (ИТ); индекс обратимой трансформации (ИОТ) и индекс необратимой трансформации (ИНОТ). Электронные спектры поглощения (ЭСП) нативных и фотомодифицированных эритроцитов регистрировали на спектрофотометре UV-2401 PC («Shimadzu», Япония) в диапазоне длин волн от 230 до 700 нм.

Контрольный образец суспензии содержал 93,6% дискоцитов, 4,4% ОД клеток и 2,0 % НД эритроцитов. Показатели индексов трансформации имели следующие значения: ИТ равен $0,07 \pm 0,04$; ИОТ – $0,05 \pm 0,003$; ИНОТ – $0,02 \pm 0,001$. Данные параметры цитоархитектоники соответствуют морфологическому профилю эритроцитарных клеток здорового человека [3].

ЭСП интактных эритроцитов характеризовались наличием полос поглощения при 274-275, 345-347, 418, 543-544 и 578 нм, что соответствует максимумам поглощения оксиформы гемоглобина (HbO₂) [4]. Воздействие УФ-света (254 нм) в дозах 300, 750 и 2270 Дж/м² на суспензию эритроцитов индуцировало уменьшение количества дискоцитов до 90,6 %, 70,0 % и 58,0 % при одновременном увеличении числа морфологически измененных клеток соответственно: ОД – до 6,2 %, 12,86 % и 13,57 % и НД – до 3,0 %, 17,1 % и 27,86 % относительно контроля. По данным спектрофотометрии, облучение суспензии эритроцитарных клеток УФ-светом в дозах 300 ÷ 2270 Дж/м² сопровождалось тенденцией к образованию метгемоглобина, содержание которого достигало максимума при дозе 2270 Дж/м².

Таким образом, исследование эритроцитарных клеток с помощью методов сканирующей электронной микроскопии и спектрофотометрии показало, что под действием УФ-излучения с длиной волны 254 нм с возрастанием дозы происходит фотохимическое превращение HbO₂ в MetHb, что может приводить к образованию внутри популяции эритроцитов патологических форм клеток.

1. Маркевич П.С., Алехнович А.В., Кисленко А.М., Есипов А.А. Применение ультрафиолетового излучения в современной медицине (обзор литературы) // Военно-медицинский журнал, 2019, т. 3, № 3.

2. Артюхов В.Г. Практикум по биофизике. Воронеж: Изд-во ВГУ, 2016, 314 с.

3. Соколова Л.О., Корвякова П.В., Автаев Д.В. и др. Применение метода сканирующей электронной микроскопии в клинико-лабораторной диагностике деформации мембран эритроцитов крови человека. Тезисы докладов 74-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых, посвященной памяти проф. А.П. Веселова (Н.Новгород, 20–23 апреля 2021 г.). Н. Новгород, Университет Лобачевского, 2021.

4. Артюхов В.Г., Калаева Е.А., Путинцева О.В., Башмакова Т.Н. Спектральные характеристики внутриэритроцитарного гемоглобина человека, модифицированного NO-содержащими лекарственными препаратами // Сборник научных трудов VI съезда биофизиков России: в 2 томах, 2019, т. 2.

КОМПЛЕКСНАЯ ТЕРАПИЯ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ Complex Therapy of Viral Diseases

Сологуб Т.В.¹, Мастерова О.А.², Ермолаев Ю.Л.³, Овсянников В.А.³

¹ Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования, г. Санкт-Петербург, РФ

² Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, г. Санкт-Петербург, РФ

³ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе, г. Санкт-Петербург, РФ

Инфекционные вирусные заболевания можно лечить с помощью фармацевтических препаратов, а также способом восстановления собственных защитных систем организма больного. У человека есть система, которая сама распознаёт инородные вирусы, их уничтожает и выводит из организма – это фагоцитарная система. При вирусных заболеваниях её способности сильно уменьшаются.

Поэтому, ещё в конце прошлого века был предложен способ восстановления свойств этой системы с помощью неинвазивных лазерных воздействий на кровь и иммунокомпетентные зоны организма больного – костный мозг. Создана специальная лазерная аппаратура, и проведены расчёты количества лазерной энергии, которую необходимо доставить при транскутанном облучении больного, до костного мозга, для обеспечения его нормальной работы и восстановления собственных защитных систем организма больного.

Предложенный способ проверен в клиниках С.-Петербурга и Москвы: с его помощью было получено выздоровление больных вирусными гепатитами (300 человек), серозными менингитами (47 человек) и ВИЧ инфицированным больным (свыше 100 человек). Лазерная терапия проводилась при одновременном использовании имевшихся в то время фармацевтических средств лечения таких больных.

При таком комплексном лечении, больные выздоравливали в более короткие сроки и без рецидивов заболеваний.

При этом был установлен клиническими исследованиями и объяснен теоретически противотромбозный эффект от лазерных воздействий на зоны костного мозга. Эти результаты докладывались на российских и международных конференциях. На их основе были защищены две кандидатские и одна докторская диссертации, а также выпущены и утверждены Минздравом РФ

При возникновении пандемии COVID-19, информация об этих работах в начале 2020 г. была передана в Минздрав РФ и в Посольства Китая и Италии, но не была востребована и использована.

К сожалению, сейчас этот способ незаслуженно забыт. В докладе будут рассмотрены возможности его использования при других вирусных заболеваниях.

За 30 лет его применения лечение получили свыше 1000 пациентов с различными заболеваниями и без нежелательных побочных последствий. Он может быть использован в случаях, подобных тому, который переживает мир в настоящее время.

ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНА SKP *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* НА ПРОЦЕСС АГРЕГАЦИИ СЫВОРОТОЧНЫХ АЛЬБУМИНОВ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ pH **Effect of *Yersinia Pseudotuberculosis* Skp Chaperone on the Aggregation Process of Serum Albumin at Different pH Values**

Старожук В.А.^{1,2}, Киселева Д.А.^{1,2}, Сидорин Е.В.¹

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, г. Владивосток, РФ, sev1972@mail.ru

² Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук, г. Владивосток, РФ

Одной из основных проблем современной биотехнологии, связанной с созданием, производством и хранением медицинских препаратов белковой природы, являются сопутствующие процессы агрегации белков. Поиск веществ, предотвращающих агрегацию целевых молекул, является одной из важных задач биотехнологии и медицинской биохимии. Защитные механизмы уменьшения или полного подавления агрегационных процессов протеинов в клетке, не редко происходят с участием шаперонов белковой природы. Один из наиболее интересных полипептидов, выполняющий функцию шаперона грамотрицательных бактерий – белок Skp (Seventeen kilodalton protein). В представленной работе для подавления агрегации сывороточных белков был проверен рекомбинантный шаперон Skp бактерии *Yersinia pseudotuberculosis* (rSkp).

Процессы агрегации белков протекают как *in vivo*, так и *in vitro* в результате стрессовых воздействий, нарушающих их нативную структуру. Одним из таких стрессовых факторов является изменение pH среды, в которую попадают протеины, а также времени пребывания в этих новых условиях. Для оценки защитного действия шаперонов широко используются тест-системы на основе агрегации модельных белков. В данной работе, в качестве белков-мишеней были выбраны человеческий и бычий сывороточные альбумины (HSA и BSA, соответственно). На первом этапе работы, была проведена оценка поведения альбуминов в интервале значений pH среды 4,0-8,0 при их хранении в течении 14 дней. Согласно литературным данным HSA и BSA имеют аминокислотную последовательность гомологичную на 76% [1, 2], вероятно поэтому поведение белков при их хранении при разных значениях pH было подобным. Альбумины практически не агрегировали при pH 5,0 и 6,0. Результаты, полученные методом ДРС, свидетельствуют о том, что на протяжении всего времени наблюдения, в образцах преобладали частицы до 10 нм (98,7-99,5%). Вовремя хранения белков в течении двух недель при pH 4,0, и 8,0 белки демонстрировали процессы самоассоциации и агрегации с разной скоростью. В ходе наблюдения было найдено, что для альбуминов наиболее критичным является щелочное значение pH. В условиях кислого буфера (pH 4,0) скорость самоассоциации и агрегации HSA была выше, чем BSA, и наоборот при нейтральных значениях pH 7,0.

Наиболее наглядное проявление шаперонных свойств rSkp *Y. pseudotuberculosis* продемонстрировал для обоих белков-мишеней в условиях щелочных значений pH реакционной среды. На протяжении всего эксперимента при значениях pH 8,0 в образцах преобладали частицы до 10 нм (95,6-99,7%). Во время проведения эксперимента при pH 5,0 и 6,0 было сложно оценить действия rSkp на белки поскольку требуется больший период времени наблюдения. В случае pH 4,0 для HSA и pH 7,0 для BSA, условия при которых процессы самоассоциации и агрегации альбуминов развивались заметно быстрее, также удалось продемонстрировать шаперонную активность rSkp. Шаперон не исключал полностью агрегацию белков-мишеней, но заметно замедлял этот процесс.

Таким образом, показано, что рекомбинантный шаперон Skp бактерии *Y. pseudotuberculosis* стабилизирует человеческий и бычий сывороточные альбумины в растворах с различными значениями pH, ингибируя процессы самоассоциации и агрегации.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 20-04-00777).

1. Peters T.Jr. Serum albumin // *Adv Protein Chem.*, 1985, vol. 37, pp. 161-245.
2. Carter D.C., Ho J.X. Structure of serum albumin // *Adv. Protein Chem.*, 1994, vol. 45, pp. 153-203.

АДАПТИВНАЯ ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА Adaptive Physical and Mathematical Model of Coronary Blood Flow

Суюндукова А.Т., Мельничук С.В., Демкин В.П., Удут В.В.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, almagul.suyundukova@mail.ru

В настоящее время высокая смертность в мире является результатом сердечно-сосудистых заболеваний, большинство из которых связано с развитием атеросклероза коронарных артерий [1]. Повышенная вязкость крови, нарушения пластичности эритроцитов и их агрегация наблюдаются при различных сердечно-сосудистых заболеваниях. Доказано, что ишемические повреждения различных органов связаны с гемореологическими изменениями вследствие локальных или общих нарушений гемостаза [2-4]. Действительно, стенозирующий атеросклероз коронарных артерий, как ведущая причина развития ишемической болезни сердца, значительно изменяет гемодинамику кровотока на стенозированных участках коронарных артерий и негативно сказывается на реологических характеристиках крови. Степень сужения артерии, а также форма и расположение атеросклеротической бляшки могут влиять на ее гемодинамическую значимость [5], которая определяется фракционным резервом кровотока (FFR). В результате, поражения сосуда, которые считались гемодинамически незначимыми, могут вызывать снижение фракционного резерва кровотока, вычисляемого как отношение давления в постстенотическом участке артерии к давлению в аорте. Поэтому, в случае промежуточного стеноза, при котором уменьшение артериального просвета находится в диапазоне от 40 до 70% («пограничный стеноз»), следует проводить исследование FFR [6]. Для вычисления FFR в условиях максимальной гиперемии необходимо найти отношение давлений, измеренных в постстенотическом участке артерии и до стеноза. При $FFR < 0,8$ стеноз считается гемодинамически значимым, что требует принятия решения о применении инвазивных методов (стентирования или аорто-коронарного шунтирования) [7].

К сожалению, использование методов прямого измерения давления в коронарных артериях ограничивается высокой стоимостью, необходимостью использования одноразовых проводников и рисками повреждения сосудистого русла. Поэтому использование неинвазивных методов определения FFR является востребованным направлением современной медицины. Особую значимость приобретают методы экспресс-диагностики FFR в случаях оценки необходимости оперативного вмешательства, а также для моделирования различных физиологических состояний.

Для экспресс-диагностики гемодинамических нарушений получили развитие упрощенные модели, основанные на доступных экспериментальных данных, адекватные физическим процессам и позволяющие обеспечить их подробную детализацию и допустимую точность. Актуальность такого рода моделей особенно проявляется в пограничных клинических ситуациях развития атеросклероза коронарных сосудов, когда необходимо принять решение об оперативном вмешательстве. В этих случаях моделирование кровотока на стенозированном участке коронарного сосуда с помощью упрощенных моделей является эффективным методом неинвазивной экспресс-диагностики. Использование такой модели для анализа кровотока в каком-либо отдельно взятом участке артерии требует корректного задания граничных условий, которые должны учитывать взаимное влияние рассматриваемого участка сосуда и остальных частей кровеносной системы, т.к. стеноз одной ветви артерии может влиять на распределение давления и кровотока в другой ветви.

Целью настоящего исследования является разработка метода адаптивной локальной гемодинамики в рамках 2D-математической модели для вычисления коронарного кровотока на стенозированных участках артерий с учетом влияния вязкости крови на основе анализа данных мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ). Метод основан на локальной 2D-математической модели гемодинамики, позволяющей оперативно вычислять характеристики кровотока в коронарных артериях с учетом геометрических параметров сосуда и реологических свойств крови, максимально соответствующим реальной клинической ситуации.

Разработанная адаптивная модель локальной гемодинамики позволит расширить представление о физиологии сердечно-сосудистых заболеваний и их лучшего понимания, даст возможность создавать более реалистичные виртуальные макеты на основании неинвазивного метода компьютерной томографии, позволит проводить оперативный персонализированный мониторинг изменений гемодинамики не только на диагностическом этапе, но и после оперативного вмешательства.

1. Virani S.S., Alonso A., Benjamin E.J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics – 2020 Update: A Report From the American Heart Association// *Circulation*, 2020, vol. 141, Iss. 9, pp. e333-e470.

2. Baskurt O.K. Pathophysiological Significance of Blood Rheology // Turk. J. Med. Sci., 2003, vol. 33, pp. 347-355.
3. Никифоров В.С. Вязкость крови как мишень терапевтического воздействия при сердечно-сосудистой патологии // Фарматека, 2015, № 15, с. 59-62.
4. Киричук В.Ф., Железнякова Н.А., Калюта Т.Ю. и др. Изменения вязкости крови у больных с ишемической болезнью сердца и фибрилляцией предсердий: механизм патогенеза или компенсации // Вестник аритмологии, 2004, № 38, с. 13-16.
5. Cowan A.Q., Cho D.J., Rosenson R.S. Importance of Blood Rheology in the Pathophysiology of Atherothrombosis // Cardiovascular Drugs and Therapy, 2012, vol. 26, pp. 339-348.
6. De Bruyne B., Sarma J. Fractional flow reserve: a review // Heart, 2008, vol. 94, pp. 949-959.
7. Tonino P.A., De Bruyne B., Pijls N.H. et al. Fractional Flow Reserve versus Angiography for Guiding Percutaneous Coronary Intervention // The New England Journal of Medicine, 2009, vol. 360, no. 3, pp. 213-224.

КОМПЛЕКСЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ С АМФИФИЛЬНЫМИ ПОЛИМЕРАМИ ДЛЯ АНТИМИКРОБНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

The Complex of Photosensitiser with Amphiphilic Polymers in Antimicrobial PDT

Соловьева А.Б.¹, Аксенова Н.А.², Тимашев С.Ф.³

¹ Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, РФ, anna@polymer.chph.ras.ru

² Государственный научный центр лазерной медицины, г. Москва, РФ

³ Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, РФ

Рост устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, увеличение количества суперинфекций вызывает необходимость поиска новых способов лечения воспалительных процессов, в частности, в отоларингологии, стоматологии, хирургии для лечения гнойных ран. Ценной альтернативой антибактериальной терапии может стать антимикробная фотодинамическая терапия (APDT), которая бурно развивается в последние годы. Объектами APDT являются анаэробные и аэробные грамотрицательные и грамположительные бактерии, а также дрожжевые и мицелиальные грибы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) - один из современных и перспективных методов лечения ран. Метод основан на введении фотосенсибилизаторов (ФС) в инфицированные клетки и ткани с последующим облучением тканей светом определенной длины волны. Наиболее активные и нетоксичные ПС-порфириновые соединения (ППС). Возбужденные триплетом молекулы PPS накапливаются в клеточных мембранах и могут передавать энергию возбуждения молекулам кислорода с образованием синглетного кислорода, активного окислителя.

Ранее мы обнаружили, что PPS может образовывать комплексы с некоторыми амфифильными полимерами (AP) в водных растворах. Такие комплексы более активны, чем исходные порфирины, в 1,5-2 раза в модельных процессах фотоокисления и в 10-30 раз при действии ПД на опухолевые клетки и опухоли у лабораторных животных. Также было показано, что такие комплексы более активны, чем исходные порфирины, при ФДТ нагноенных ран.

В этом исследовании комплексы PPS и амфифильных полимеров были использованы в селективном APDT. Мы исследовали активность фотодитазина с комплексами Pluronic F127 и поливинилпирролидона (PVP) на грамотрицательные бактерии *E. coli* и грамположительные бактерии *S. aureus* в культуре первичных фибробластов человека, выделенных из биоптатов кожи здоровых пациентов. В качестве контроля использовали ростовую среду с комплексом PhZ-AP. Клетки окрашивали Циль-Нильссоном. Количество микроорганизмов оценивали в пяти полях зрения (40x) под световым микроскопом. Было обнаружено, что в присутствии комплексов PhZ-PVP при фотовозбуждении происходит только ингибирование роста грамотрицательных организмов.

Интересно, что активность ПВП проявляется при его низких концентрациях в среде (0,05%). При увеличении концентрации ПВП до 0,025% модулирующее влияние полимера на фототоксичность фотодитазина резко снижается. В то же время комплексы PhZ - Pluronic F127 при PD-воздействии не проявили селективности в отношении *E. coli* и *S. aureus*. В частности, комплекс PhZ-PVP в ~ 10 раз активнее системы PhZ-F127 на *E. coli* и в ~ 15 раз, чем у чистого PhZ.

Таким образом, обнаружена избирательная антимикробная активность комплексов PhZ-PVP в отношении грамотрицательных бактерий *E. coli*. Это открывает возможность создания препаратов на основе комплексов ПФС - AP для селективной антимикробной фотодинамической терапии как нового метода лечения инфекционно-воспалительных заболеваний. Механизм селективности наших комплексов до сих пор не ясен. Возможно, что наблюдаемая в предыдущих экспериментах высокая антимикробная фотоактивность комплексов PhZ-AP при PD-лечения гнойных ран была достигнута за счет специфического связывания гидрофобных групп AP с фрагментами клеточных стенок бактерий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект 16-13-10295.

USE OF THE DRUG PIRACETAM IN ADULT RATS, BEHAVIORAL AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BRAIN AFTER FRACTIONATED GAMMA IRRADIATION

Lalkovičová M.^{1,2}, Severyukhin Yu.S.^{1,3}, Kolesnikova I.A.^{1,3}, Utina D.M.^{1,3}, Lyakhova K.N.¹, Gaevsky V.N.¹

¹Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia, lalkovicova@jinr.ru

²Institute of Experimental Physics, Slovak Academy of Sciences, Kosice, Slovakia

³Dubna State University, Dubna, Russia

Brain can be exposed to various types of ionizing radiation after a nuclear accident or during space flight, and also during medical treatment. Therefore it is important to find drugs that can influence radiation - induced disorders in the CNS. The neurometabolic stimulator piracetam (2-oxo-1-pyrrolidine acetamide) is a promising agent that could be used in space or medical radiobiology. This nootropic drug is used in experimental and clinical medical research, and showed a positive effect on the processes of learning and memory [1].

In the presented study, the impact of whole-body fractionated gamma irradiation was studied on the behavioral responses of adult rats. Also, morphological changes in the hippocampus were examined.

In the experiment, male rats (15 animals) of Sprague Dawley (SD) strain, at the age of 8 months of 500–600 g were used. The first control group (5 animals) received daily intraperitoneal injections of 0.5 ml NaCl (0.9%) during the 14 days of the experiment. The second group (5 animals) was subjected to ⁶⁰Co gamma-irradiation at a dose of 0.5 Gy/day on 5 days per week over two weeks and also received daily intraperitoneal injections of 0.5 ml NaCl (0.9%). The third group (5 animals) was also subjected to a fractionated gamma irradiation of ⁶⁰Co at a dose of 0.5 Gy/day and then each animal received intraperitoneal injections of 0.5 ml of piracetam. The whole-body fractionated ⁶⁰Co gamma-irradiation at a total dose of 5 Gy was performed at the Rocus M facility (JINR MTC). The dose rate was 0.5 Gy/min at a SSD of 75 cm.

To study the behavioral reactions, the test systems Open Field (OF) and T-Maze were used. The testing time of OF was divided into two periods (0–3 min; 3–6 min), with the aim of dividing the animal's primary response to a new environment and secondary behavioral manifestations. Animals were euthanized by the decapitation method 24 h after behavioral testing. The brain of the animal was placed in a Carnoy's fixative, then enclosed in paraffin and 10 µm thick sections were prepared on a microtome. The staining methods used were cresyl violet according to the Nissl method and Fluoro Jade B. For statistical analysis Mann–Whitney pair analysis and ANOVA (with the significance of $p < 0.05$) was used.

The results showed ambiguous trends in the alternation of the T-Maze arms. The behavioral reactions in the Open Field during the first 3 min of testing showed statistically significant differences in the number of freezing reactions between the control animals and the group of gamma irradiation ($p = 0.009$). Statistically significant differences are also present between the piracetam and gamma group ($p = 0.03$). In the second period from 3 to 6 min, the speed of movement of the animal and the total distance covered were higher in gamma group in comparison with piracetam group ($p = 0.037$).

The morphological examination confirms cell degeneration in rat brain, the highest number of Fluoro Jade B-positive cells was found in a group of animals exposed to gamma irradiation ($p = 0.002$, Anova). Application of piracetam led to a statistically significant decrease in the number of similar reactions, Mann–Whitney pairwise: control vs gamma ($p = 0.0001$); gamma vs piracetam ($p = 0.0015$). Nissl staining showed a decrease in the number of neurons without visible changes in comparison with gamma vs. gamma + P ($p = 0.0003$). An increase in the number of neurons with morpho-functional and compensatory changes was observed in animals of the control group and those on piracetam compared with the irradiated group; control vs. gamma ($p = 0.0005$); gamma vs. gamma + P ($p = 0.02$).

The results indicate the damaging effect of fractionated gamma radiation at a dose of 5 Gy on the brain cells and neuroprotective influence of piracetam administration for two weeks after exposure to radiation. Piracetam, as a potential supplement, can be used in a treatment of radiation-induced cognitive-behavioral impairment in various cases of radiation damage.

1. Vostrikov V.V. Place of piracetam in the modern practice of medicine // Rev. Clin. Pharmacol. Drug Therapy, 2017, vol. 15 (1), pp. 14-25. doi: <https://doi.org/10.17816/rcf15114-25>

SIGNIFICANCE TEST ON A DATA MATRIX OF TANNINS EXTRACTED FROM TENUIFLORA MIMOSA (TEPEZCOHUITE) ENCAPSULATED IN TiO₂ NANORESERVOIRS

Cervantes T. A.M.¹, González F. M.¹, Moreno R. A.¹, Italo C. J.¹, Hernández-Apam M.A.², Lima G. R.¹

¹Meritorious Autonomous University of Puebla, Puebla, Mexico, anact26@hotmail.com

²State Autonomous People's University of Puebla, Puebla, Mexico

The action of the active principles of tepezcohuite (condensed tannins) was used to value the healing capacity in aseptic surgical wounds of 1 centimeter diameter in New Zealand rabbits, for which a sample of 6 rabbits was taken, to which 3 healing treatments and isotonic saline were applied, the objective is to demonstrate which treatment is the best

healing, for which we applied the Hotelling test, comparing the samples 2 by 2, to know if there are significant differences between the methods. The treatments used were nanoreservoirs of Tan/TiO₂-150 in weight of tannins in 60% and condensed tannins, TiO₂ and the isotonic saline solution (I. S.S.).

Mexico has numerous species of plants and trees that are used for therapeutic purposes, among them the tepezcohuite tree, the name of the roots of the Nahuatl language that comes from the word tepezcuahuitl, which means "tree of the hill that bleeds". This was used by the Mayas for more than 10 centuries as a cure for skin diseases, such as wounds, burns, dermatosis, acne.

The nanoreservoirs of TiO₂ were synthesized by encapsulating active substances such as condensed tannins extracted from tenuiflora mimosa (Tepezcuohuite), were applied to shallow non-chronic surgical wounds on the back of New Zealand rabbits. Preliminary results show a 90% closure evolution in wounds with Tan/TiO₂-150 nanoreservoirs compared to isotonic saline, tannins and TiO₂.

The rabbits were classified in treatments A, B and C, and isotonic saline, as shown in table 1.

Table 1. Description of the treatments carried out on New Zealand rabbits

Treatment "A"	Treatment "B"	Treatment "C"
Rabbits 1, 2	Rabbits 3, 4	Rabbits 6, 7
nanoreservoir Tannins y S.S.I.	nanoreservoir Tan/TiO ₂ -150 y S.S.I.	TiO ₂ y S.S.I.

1. Aguilar-De-Leyva Á., Campiñez M.D., Casas M., Caraballo I. Critical Points and Phase Transitions in Polymeric Matrices for Controlled Drug Release // Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies, 2015, vol. 1, Structure and Chemistry. Wiley, pp. 101-142.

2. Cadena-Iñiguez P., Cruz-Morales F. D.C, Ballinas-Albores E. Tepezcohuite (Mimosa tenuiflora L (Willd), el árbol de la piel tepezcohuite (Mimosa tenuiflora L (Willd)), the skin tree, agro productividad, año 7, 2014, vol. 7 (6).

3. Meyers L.S., Gamst G., Guarino A.J. Applied Multivariate Research, first Edition. Edit. Sage Publication, Inc. 2006, Hotelling's T₂, pp. 365, 370-373, 375-376, 378-386, 399, 402, 405.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЦИНКА НА ЗЛОКАЧЕСТВЕННУЮ ПОПУЛЯЦИЮ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ В-ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ: *IN VITRO* ИССЛЕДОВАНИЕ

Effect of Zinc Ions on Malignant Cell Populations in Patients with Chronic B-Lymphocytic Leukemia: *in vitro* Study

Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М.

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, МЗ РБ, г. Минск, Беларусь, tayzoe@mail.ru

В настоящее время цинк стал одним из тех элементов, нарушение метаболизма которого активно исследуется для понимания его участия в развитии ряда заболеваний человека. Показано, что этот микроэлемент оказывает критическое влияние на гомеостаз, иммунную функцию, окислительный стресс, апоптоз и старение организма, а значительные нарушения в функционировании того или иного органа связаны именно с дефицитом этого микроэлемента. В 2009 году было впервые предложено использование соединений цинка в качестве эффективного химиопрофилактического средства при некоторых видах онкологии [1]. Позже в *in vitro* и *in vivo* исследованиях продемонстрирована связь между развитием онкозаболевания и дисбалансом (дефицитом или избытком) ионов цинка и его транспортеров. Однако такие работы немногочисленны и разнонаправлены.

Цель работы – изучить влияние ионов цинка *in vitro* на процент популяции злокачественных клеток у пациентов с хроническим В-лимфоцитарным лейкозом (В-ХЛЛ).

Материалы и методы исследования. В группу пациентов с В-ХЛЛ согласно критериям включения и исключения вошли 15 человек. Периферические мононуклеарные клетки (ПМНК) изолировали в градиенте плотности Гистопак-1077. Процентное содержание CD19⁺CD5⁺ клеток в ПМНК пациентов определяли путем иммунофенотипирования. Уровень активных форм кислорода (АФК) в лимфоцитах доноров и пациентов с В-ХЛЛ определяли с помощью флуоресцентного зонда 5-хлорометил-2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата (СМ-Н₂DCFDA). Оценку содержания металлотионеинов (МТ) в ПМНК доноров и пациентов проводили с помощью моноклональных антител UC1MT. В качестве источника ионов цинка использовали сульфат цинка в концентрации 100 мкМ. Все измерения были выполнены на проточном цитофлуориметре FACScanto II (BD).

Результаты и обсуждения. Для определения процентного содержания CD5⁺ лимфоцитов среди CD19⁺ клеток в суммарной популяции ПМНК пациентов с В-ХЛЛ нами было проведено иммунофенотипирование, которое выявило содержание CD19⁺CD5⁺ клеток в среднем на уровне 82,1±16,3%. В свою очередь стоит

отметить, что в популяции ПМНК здоровых доноров процент $CD19^+CD5^+$ клеток находится в диапазоне 5–20%, а для пациентов с ХЛЛ считается, что они находятся в стадии ремиссии при содержании $CD19^+CD5^+$ клеток в крови не выше 25% [2]. На следующем этапе работы ПМНК пациентов с В-ХЛЛ были помещены в питательную среду с добавлением ионов цинка в фармакологической концентрации и инкубировались в течение 24 и 48 ч. После проведения повторного иммунофенотипирования через данные временные интервалы было обнаружено достоверное снижение количества злокачественных $CD19^+CD5^+$ клеток в среднем на 15-25%, величина которого зависела от времени инкубации клеток с Zn^{2+} . Параллельная оценка уровня экспрессии низкомолекулярного цистеин-содержащего белка МТ в цитозоле лимфоцитов пациентов с В-ХЛЛ до и после инкубации с ионами цинка выявила достоверное увеличение содержания этого белка. Полученный результат может свидетельствовать о запуске синтеза МТ в связи с увеличением лабильного пула внутриклеточных ионов цинка, т.к. известно, что МТ вовлечены в сложный процесс контроля клеточного метаболизма ионов цинка.

Для выяснения причинно-следственной связи обнаруженного Zn -индуцированного снижения содержания злокачественных $CD19^+CD5^+$ клеток нами был проведен сравнительный анализ уровня содержания АФК и экспрессии МТ в лимфоцитах доноров и пациентов с В-ХЛЛ. Была установлена существенная разница между исследуемыми параметрами в норме и при патологии, а именно: повышенное содержание АФК (в среднем в 1,5–2 раза) в лимфоцитах пациентов с В-ХЛЛ по сравнению с донорскими на фоне сниженной экспрессии МТ в них (в среднем в 1,6–1,8 раза по сравнению с донорскими лимфоцитами), что может свидетельствовать о значительном окислении тиольных групп МТ из-за сдвига редокс-баланса лейкозных клеток в сторону окислителей. Эти данные хорошо согласуются с представлением о роли окислительного стресса в патогенезе ряда онкологических заболеваний. Таким образом, ионы цинка могут воздействовать на клеточный окислительно-восстановительный баланс, опосредуя активацию клеток иммунной системы и, тем самым, ослаблять реакцию онкогенеза на запуск каскадов сигнальных путей, вовлеченных в редокс-процессы.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной эффективности введения соединений цинка в протоколы терапии при онкогематологических заболеваниях, однако для этого требуются масштабные исследования с целью выяснения механизмов действия Zn^{2+} на онкологические клетки, что позволит установить взаимосвязи “цинк–злокачественные клетки”.

1. Prasad A.S., Beck F.W.J., Snell D.C., Kucuk O. Zinc in cancer prevention // *Nutr. Canc.*, 2009, vol. 61, pp. 879-887. doi: 10.1080/01635580903285122

2. Gupta R., Jain P., Deo S. V.S., Sharma A. Flow cytometric analysis of $CD5^+$ B cells: a frame of reference for minimal residual disease analysis in chronic lymphocytic leukemia // *Am. J. Clin. Pathol.*, 2004, vol.121, no. 3, pp. 368-372. doi: 10.1309/T5EM-9BQU-B9CM-8F57

РЕДОКС-БАЛАНС В КАЧЕСТВЕ КРИТЕРИЯ ДЛЯ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОГО УЧЕТА ОТВЕТА КЛЕТОК ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ НА ТЕРАПИЮ

Redox Balance as a Criterion for Personalized Registration of Cell Response of Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia to Therapy

Тамашевский А.В.¹, Гармаза Ю.М.¹, Пасюков В.В.¹, Слобожанина Е.И.²

¹Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, МЗ РБ, г. Минск, Беларусь, tayzoe@mail.ru

² Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

Известно, что острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) занимает ведущее место в структуре онкогематологической патологии в детском и подростковом возрасте. На его долю приходится 20% от всех злокачественных заболеваний и 85% от всех лейкозов. Оптимистичные результаты терапии *de novo* при ОЛЛ, полученные в конце 90-х годов прошлого столетия у детей и позволившие через 20 лет говорить об излечении более 80% пациентов, давали возможность полагать, что прогноз при ОЛЛ у взрослых будет таким же благоприятным в плане ответа на терапию и длительности безрецидивной выживаемости, как и у детей. В течение трех последних десятилетий многие группы исследователей, применяя программы химиотерапии различной интенсивности, пытаются воспроизвести у взрослых пациентов с ОЛЛ эти результаты, которые можно назвать эталоном онкологической эффективности. Но, при этом, что полная ремиссия достигается в 70-80% случаев, лишь 30-40% больных переживают пятилетний рубеж без рецидива, т.е. только у 20-25% из общего числа заболевших можно говорить о выздоровлении.

Очевидно, что расширение спектра предсказательных диагностических технологий может способствовать прогнозированию ответа на терапию в организме с целью выбора адекватной стратегии лечения и ее мониторинга. Известно, что окислительный стресс играет особую роль в реализации токсического эффекта в лейкозных клетках в связи с вариабельностью содержания в них активных форм кислорода (АФК) и особенностями метаболизма противоопухолевых препаратов.

Цель работы – определить жизнеспособность клеток пациентов с ОЛЛ после воздействия лекарственных средств, применяемых при терапии в клинике и оценить их редокс-состояние для выявления критерия, подходящего для персонализированного учета ответа лейкозных клеток на терапию.

Материалы и методы исследования. В группу пациентов с ОЛЛ согласно критериям включения и исключения вошли 62 человека. Уровень АФК в лимфоцитах пациентов с ОЛЛ определяли с помощью флуоресцентного зонда 5-хлорометил-2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H₂DCFDA). Оценку жизнеспособности мононуклеарных клеток пациентов с ОЛЛ проводили с помощью 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромид (МТТ-теста). Использовали лекарственные средства (флударабел (*Flu*), винкристин (*VincR*), иматиниб (*Imat*), дексаметазон (*Dex*)) в концентрациях, близких к терапевтическим. Все измерения были выполнены на планшетном спектрофотометре Sunrise Microplate Reader (Tecan) и проточном цитофлуориметре FACScanto II (BD).

Результаты и обсуждения. Различия результатов лечения в разных возрастных категориях детской популяции обусловлены отсутствием преимущества в терапии при переходе подростков с ОЛЛ из детской во взрослую онкогематологию и адаптированных для этого возраста терапевтических протоколов. Таким образом, этот факт определил подход, при котором пациенты с ОЛЛ в возрасте до 16 лет составили первую группу исследуемых (n=18), а пациенты старше этого возраста вошли во вторую группу (n=44).

В обеих группах пациентов содержание АФК увеличивалось после краткосрочного воздействия (2-3 ч) *VincR* и *Imat*, но не изменялось после долгосрочной (18-20 ч) инкубации с *Imat*, *VincR*, *Flu* для I группы, с *VincR*, *Flu* – для II группы. При действии *Imat* в течение 18-20 ч на клетки пациентов с ОЛЛ II группы в них наблюдался достоверный рост АФК. В свою очередь, *Dex* приводил к смещению редокс-баланса лимфоцитов пациентов I и II групп с ОЛЛ в сторону антиоксидантов, как после краткосрочного, так и после долгосрочного воздействия, причем во втором случае снижение АФК носило статистически достоверный характер.

Оценка жизнеспособности клеток пациентов при ОЛЛ обеих групп выявила статистически достоверное ее снижение по сравнению с контролем (условно здоровые доноры). Обнаружено, что клетки пациентов с ОЛЛ I группы обладали более низкой чувствительностью к *Flu* и *Imat* в концентрациях, близких к терапевтическим, по сравнению с лейкозными клетками II группы. Чувствительность клеток пациентов с ОЛЛ к *Dex* и *VincR* находилась на одном уровне для обеих групп. Более того, была обнаружена зависимость чувствительности клеток пациентов с ОЛЛ из обеих групп от их возраста после воздействия исследуемых лекарственных средств *in vitro* в концентрациях, близких к терапевтическим.

Таким образом, обнаружена значительная вариабельность индивидуальной чувствительности клеток пациентов с ОЛЛ при воздействии одинаковых концентраций лекарственных средств, близких к терапевтическим, что указывает на необходимость принимать во внимание индивидуальную чувствительность *ex vivo* клеток пациентов с данным заболеванием к химиотерапевтическим воздействиям. В качестве критерия для возможности персонализированного учета ответа клеток пациентов с ОЛЛ на терапию можно использовать изменение их редокс-баланса.

СЕРОВОДОРОД ВЫСТУПАЕТ МЕДИАТОРОМ NO-СИГНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ, ТЕМ САМЫМ СТИМУЛИРУЯ ДИСПЕРСИЮ БИОПЛЕНОК

Hydrogen Sulfide Mediates NO-Signaling Activity, Thereby Stimulating Biofilm Dispersion

Телегина Д.И., Васильева С.В.

Российский химико-технологический университет, г. Москва, РФ, daryakinder62@gmail.com

В настоящее время одной из острых проблем современной медицины является способность бактерий к пленкообразованию. Так, бактерии, заключенные в биопленки, менее восприимчивы к широкому спектру противомикробных препаратов и иммунной защите хозяина. Потенциально перспективным способом борьбы выступает инициирование скоординированного рассеивания под действием адаптивного ответа на различные специфические сигналы, такие как уровень доступности питательных веществ, окислительного стресса, а также воздействием важной сигнальной молекулы монооксида азота (NO).

В данной работе, в результате обобщения текущих знаний о молекулярных механизмах регуляции жизненного цикла пленкообразующих бактерий, исследовали донор NO – тетранитрозильный биядерный комплекс железа с тиомочевинной (Fe(SC(NH₂)₂)₂(NO)₂)₂(Fe₂(S₂O₃)₂(NO)₄) [Nod-TU] в качестве потенциального перспективного агента, вызывающего дисперсию биопленок, и сульфидов, при моно – и комбинированной обработке клеток с использованием количественного анализа экспрессии генов репарации ДНК в клетках *E. coli*, а также скорости дисперсии бактериальной биопленки у *Pseudomonas aeruginosa*.

Амперометрическое определение NO-донорной способности [Nod-TU] в экспериментах *in vivo* в комбинации с Na₂S/NaHS продемонстрировало, что сульфиды не изменяют количество генерируемого донором NO, оказывая лишь небольшое влияние на начальную стадию генерации.

Изучение влияния комбинированного действия NO-донора с Na₂S/NaHS на активацию главных ДНК-репарационных систем SOS (sfhA) и SoxRS (soxS) защиты клеток от стресса проводили на суспензионных культурах специально сконструированных генетически-модифицированных штаммов *E. coli* PQ37 и *E. coli* TN530

соответственно. Было установлено, что $\text{Na}_2\text{S}/\text{NaHS}$ в концентрации 0,005 мМ–5 мМ не оказывают токсического и генотоксического действия. Наибольшую сигнальную активность [NOd-TU] демонстрировал при концентрации 0,05 мМ, так при монообработке наблюдали 8-кратное увеличение экспрессии гена *soxS* и 4,5-кратное увеличение гена *sfIA*. Комбинированная обработка [NOd-TU] и $\text{Na}_2\text{S}/\text{NaHS}$ в соотношении 1:20 дополнительно увеличивала уровень экспрессии гена *soxS* на 40%, в то время как значительные изменения в экспрессии гена *sfIA* после комбинированной обработки отсутствовали.

Исходя из полученных результатов, было логично предположить, что совместное использование NO-доноров с $\text{NaHS}/\text{Na}_2\text{S}$ будет значительно повышать эффективность дисперсии биопленок по сравнению с монообработкой. Было установлено, что при обработке 0.05 мМ [NOd-TU] зрелых биопленок *Ps. aeruginosa* показатели дисперсии были аналогичны действию 0.05 мкМ антибиотика ципрофлоксацина, в то время как при комбинированном воздействии [NOd-TU]+ $\text{Na}_2\text{S}/\text{NaHS}$, в ранее определенном оптимальном соотношении 1:20, наблюдали значительное подавление биопленки, которое в 6.5 раз превосходило действие ципрофлоксацина.

Увеличение экспрессии гена *soxS* и показателей дисперсии биопленки при совместной обработке [NOd-TU] с $\text{NaHS}/\text{Na}_2\text{S}$, коррелировало с ростом количества белков, содержащих в своем составе динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с персульфидными лигандами, определение которых осуществлялось с помощью метода ЭПР-спектроскопии. В клетках обработанных [NOd-TU], наблюдали сигнал ДНКЖ с тиоловыми лигандами с $g_{\text{aver}} = 2,03$ ($g_{\perp} = 2,04$, $g_{\parallel} = 2,014$). При обработке клеток комбинацией [NOd-TU]+ $\text{NaHS}/\text{Na}_2\text{S}$ (1:20) происходило изменение сигнала на “узкий” сигнал ДНКЖ с персульфидными лигандами с $g_{\text{aver}} = 2,03$ ($g_{\perp} = 2,032$, $g_{\parallel} = 2,02$), при этом интенсивность была в два раза больше, чем у тиола.

Механизмы, лежащие в основе формирования таких “узких” сигналов в спектрах ЭПР, подробно обсуждались в работе [1]. Предполагается, что активность таких комплексов выше, чем активность ДНКЖ с тиоловыми лигандами. Действительно, подробная химическая природа перекрестного взаимодействия между сульфидом и ДНКЖ в настоящее время остается неясной, но особое внимание уделяется двум химическим продуктам - нитрозотиолу HSNO и нитрозоперсульфиду $\text{SSNO}^{\cdot-}$, что объясняет устойчивую биоактивности S-нитрозотиолов после реакции с сульфидом.

Таким образом, способность H_2S модулировать NO-сигнальную активность может быть использована в качестве крайне перспективной стратегии борьбы с биопленочными инфекциями при использовании NO-доноров в качестве агентов регуляции формирования и дисперсии биопленок.

1. Vanin A.F. et al. EPR Characterization of Mononuclear Dinitrosyl Iron Complex with Persulfide as a New Representative of Dinitrosyl Iron Complexes in Biological Systems: An Overview // Appl. Magn. Reson., 2014, vol. 45, no. 4, pp. 375-387.

СВЯЗЫВАНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА (II) ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНОМ ИНГИБИРУЕТ РЕАКЦИЮ ФЕНТОНА

Binding of Iron (II) Ions by Dihydroquercetin Inhibits the Fenton Reaction

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ,
teselkin-box@mail.ru

Известно, что ионы Fe(II) участвуют в регуляции продукции активных форм кислорода – супероксидного анион-радикала и пероксида водорода (H_2O_2), которые в физиологических условиях выполняют сигнальную функцию в клетках. Нарушение механизмов, обеспечивающих поддержание гомеостаза железа в организме человека, приводит к увеличению уровня каталитически активного железа Fe(II) , участвующего в реакции разложения H_2O_2 (реакция Фентона). В этой реакции происходит образование гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$), который обладает очень высокой реакционной активностью и способен индуцировать окисление биологически важных молекул [1]. Уменьшение концентрации каталитически активных ионов Fe(II) будет препятствовать развитию оксидативного стресса. Такую функцию могут выполнять железо-хелатирующие агенты, например, соединения флавоноидной природы, к числу которых относится дигидрокверцетин (ДГК) [2]. Взаимодействие ДГК с ионами Fe(II) изучено недостаточно. В частности, остается открытым вопрос о том, способны ли ионы Fe(II) в составе комплекса с ДГК участвовать в свободнорадикальных реакциях.

Цель работы – исследовать каталитическую активность ионов Fe(II) , находившихся в составе комплекса с ДГК, в реакции Фентона.

В работе использовали ДГК (2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4H-1-бензопиран-4-он) фирмы «Sigma-Aldrich» (США). ДГК растворяли в этаноле до концентрации 10 мМ. Рабочий раствор FeSO_4 (5 мМ) готовили непосредственно перед экспериментом на 0,01 н HCl .

За протеканием реакции Фентона наблюдали, регистрируя кинетику хемилюминесценции (ХЛ) системы $\text{Fe(II)}-\text{H}_2\text{O}_2$ в 50 мМ трис- HCl -буфере, pH 7,0 при 37°C и постоянном перемешивании с использованием хемилюминометра Lum-5773 (ООО «ДиСофт», Россия). Максимальные значения интенсивности ХЛ системы

Fe(II)-H₂O₂ регистрировали через 1–1,5 с после введения FeSO₄ или H₂O₂, и далее свечение медленно затухало. Основным измеряемым параметром была максимальная интенсивность свечения [3].

Вначале исследовали зависимость интенсивности ХЛ от концентрации H₂O₂ при постоянной концентрации ионов Fe(II), равной 6 мкМ, которая была взята в дальнейших экспериментах в качестве максимальной. Интенсивность ХЛ достигала постоянного уровня при концентрации H₂O₂ 20 мМ и более. Данный результат можно объяснить тем, что при этих условиях все ионы Fe(II), имеющиеся в реакционной среде, полностью расходуются в реакции Фентона. По этой причине дальнейшее повышение концентрации H₂O₂ не приводит к увеличению интенсивности свечения.

В условиях избытка H₂O₂ интенсивность ХЛ системы Fe(II)-H₂O₂ будет определяться концентрацией каталитически активных ионов Fe(II). Добавление ионов Fe(II) к раствору 20 мМ H₂O₂ в буфере в конечной концентрации от 1 до 6 мкМ сопровождалось развитием свечения, интенсивность которого увеличивалась пропорционально количеству введенного двухвалентного железа. Если ионы Fe(II) предварительно инкубировали в буфере в течение 15 мин и после этого добавляли к раствору H₂O₂, то наблюдали некоторое снижение интенсивности ХЛ по отношению к контролю (без инкубации), что обусловлено спонтанным окислением части ионов Fe(II) в Fe(III). Когда ионы Fe(II) предварительно инкубировали с ДГК для формирования комплекса, а затем добавляли к раствору H₂O₂ (при конечной концентрации ДГК 4 мкМ), то ХЛ не наблюдалась в случае молярного отношения ДГК/Fe(II), равного 2:1 и выше. ХЛ также не наблюдалась при добавлении к раствору H₂O₂ только буфера или ДГК в буфере. При уменьшении отношения ДГК/Fe(II) ХЛ регистрировалась, но ее интенсивность была ниже, чем в отсутствие ДГК. Это можно объяснить тем, что в системе появляется не связанное с ДГК свободное двухвалентное железо, способное катализировать реакцию разложения H₂O₂, которая сопровождается ХЛ.

Таким образом, результаты, полученные в настоящем исследовании, показывают, что ионы Fe(II) в составе комплекса с ДГК находятся в неактивном состоянии и не способны катализировать реакцию Фентона, в которой происходит образование *ОН. Можно полагать, что при выбранных экспериментальных условиях стехиометрическое соотношение ДГК и ионов Fe(II) в составе комплекса составляет 2:1.

1. Gammella E., Recalcatti S., Cairo G. Dual role of ROS as signal and stress agents: iron tips the balance in favor of toxic effects // *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, vol. 2016, p. 8629024. doi: 10.1155/2016/8629024
2. Topal F., Nar M., Gocer H. et al. Antioxidant activity of taxifolin: an activity–structure relationship // *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2016, vol. 31, no 4, pp. 674–683. doi: 10.3109/14756366.2015.1057723
3. Babenkova I.V., Osipov A.N., Teselkin Y.O. The effect of dihydroquercetin on catalytic activity of iron (II) ions in the Fenton reaction // *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2018, vol. 165, no 3, pp. 347–350. doi: 10.1007/s10517-018-4167-x

ВЛИЯНИЕ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ЙЕРБА МАТЕ (*ILEX PARAGUARIENSIS*) НА ПРОЦЕСС ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ МЕМБРАН

Effect of Aqueous Extracts from Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) on the Lipid Peroxidation of Liposomal Membranes

Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В.

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ, teselkin-box@mail.ru

Известно, что водные извлечения из падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*), или йерба мате, обладают антиоксидантными свойствами [1], что открывает перспективы для создания на их основе лекарственных препаратов. Изучение способности водных экстрактов мате ингибировать процесс свободнорадикального пероксидного окисления липидов (ПОЛ), индуцированный ионами Fe²⁺, имеет большое значение для прогнозирования возможных антиоксидантных эффектов йерба мате *in vivo*.

Цель работы – исследовать влияние водных экстрактов мате и некоторых индивидуальных полифенольных компонентов мате на процесс Fe²⁺-индуцированного ПОЛ липосом.

В качестве объекта исследования использовали мате торговой марки Amanda категории Desplada (La Cachuera S.A., Аргентина). Водные экстракты мате – водное извлечение из мате и сухой экстракт мате (лиофилизат водного извлечения из мате) – получали, как описано в работе [1]. Однослойные липосомы готовили из яичных фосфолипидов (Fluka, Швейцария) в 50 мМ трис-НСl-буфере, содержащем 100 мМ КСl, рН 7,4.

Одним из методов, позволяющих исследовать как антирадикальные, так и Fe²⁺-хелатирующие свойства биологически активных соединений, является метод регистрации хемилюминесценции (ХЛ), сопровождающей процесс Fe²⁺-индуцированного ПОЛ липосом. Известно, что вещества, перехватывающие липидные радикалы, увеличивают время достижения максимальной интенсивности свечения липосом (*T*) и понижают интенсивность этого свечения (*I*), в то время как вещества, хелатирующие ионы Fe²⁺, вызывают уменьшение первого показателя и в меньшей степени влияют на второй [2]. Измерение ХЛ липосом проводили при температуре 37°C на хемилюминометре Lum-5773 (ООО «ДиСофт», Россия). Реакционная среда имела следующий состав: липосомы

(0,4 мг фосфолипидов/мл), 1,25 мкМ С-525 в качестве активатора ХЛ, 50 мМ трис-НСl-буфер, содержащий 100 мМ КСl, рН 7,4. Процесс ПОЛ липосом индуцировали добавлением сульфата железа в конечной концентрации 15 мкМ. В качестве стандартных антиоксидантов использовали радикальный ингибитор тролокс и хелатор ионов Fe^{2+} ЭДТА.

Обнаружено, что добавление водного извлечения из мате и сухого экстракта мате к суспензии липосом сопровождалось изменением показателей T и I . С повышением концентрации водных экстрактов мате сначала наблюдалось увеличение T . Затем этот показатель либо уменьшался до значений ниже исходных (водное извлечение), либо оставался на прежнем уровне (сухой экстракт). Что касается показателя I , то было зарегистрировано его дозозависимое понижение. При изучении влияния основных полифенольных соединений мате – кверцетина, рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот – на кинетику Fe^{2+} -индуцированной ХЛ липосом обнаружено, что кверцетин, подобно тролоксу, вызывал дозозависимое увеличение T , тогда как кофеиновая и хлорогеновая кислоты, подобно ЭДТА, – уменьшение. В случае рутина повышение его концентрации до 2 мкМ сопровождалось увеличением T до некоторого определенного уровня, который практически не изменялся при дальнейшем повышении концентрации этого флавоноида (до 8 мкМ). Повышение концентрации изучаемых веществ в суспензии липосом сопровождалось постепенным понижением I . При этом значение концентрации, при которой имело место снижение I на 50%, возрастало в следующем ряду: кверцетин (0,25 мкМ) < тролокс (0,3 мкМ) < рутин, кофеиновая кислота (0,9 мкМ) < хлорогеновая кислота (1,1 мкМ).

Способность водных экстрактов из мате связывать ионы Fe^{2+} была подтверждена измерением спектров поглощения. В качестве среды был взят буфер, используемый в экспериментах с липосомами. Обнаружено, что добавление ионов Fe^{2+} к водному извлечению из мате и сухому экстракту мате приводило к изменению их спектров поглощения, которые соответствовали изменениям, наблюдаемым для хлорогеновой и кофеиновой кислот соответственно. Кроме того, инкубация в течение 5 мин ионов Fe^{2+} в начальной концентрации 15 мкМ в присутствии экстрактов мате и полифенольных соединений мате в различных концентрациях сопровождалась дозозависимым уменьшением содержания свободных ионов Fe^{2+} в реакционной среде, которое определяли в тесте с *o*-фенантролином.

Механизм ингибирования Fe^{2+} -индуцированного процесса ПОЛ водными экстрактами мате, по-видимому, состоит в том, что полифенольные соединения мате способны перехватывать липидные радикалы, а также образовывать комплексы с ионами Fe^{2+} , в которых эти ионы находятся в неактивном состоянии.

1. Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Pavlova L.A. et al. The antioxidant capacity of aqueous extracts from yerba mate (*Plex paraguayensis*) // *Biophysics*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 125-132. doi: 10.1134/S0006350921010176

2. Vladimirov Y.A., Proskurnina E.V., Izmajlov D.Yu. Kinetic chemiluminescence as a method for study of free radicals reactions // *Biophysics*, 2011, vol. 56, no. 6, pp. 1055-1062. doi: 10.1134/S0006350911060200

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ОКСИДА АЗОТА

Proposed Mechanism for Regulation the Physiological Effects of Nitric Oxide

Титов В.Ю.^{1,2}, Осипов А.Н.¹, Кочиш И.И.².

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ, vtitov43@yandex.ru

² Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, г. Москва, РФ, kochish.i@mail.ru

Знание механизма физиологического воздействия оксида азота (NO) необходимо для выработки оптимальных путей регуляции его физиологических эффектов, разработки препаратов соединений – доноров NO и их грамотного применения. Но такие исследования лимитирует отсутствие методов, позволяющих оперативно контролировать содержание метаболитов NO в живых тканях и его изменение в ходе физиологических и патологических процессов. Предполагается, что основную часть соединений – депо (или соединений – доноров NO) в клетках составляют динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ). Считается, что они продлевают физиологическое время жизни NO и непосредственно взаимодействуют с его физиологической мишенью. Большинство ДНКЖ находятся в биядерной форме, не являющейся парамагнитной, и не могут быть определены методом ЭПР [1]. Прочие методы, основанные на использовании различных ловушек на NO, а также образовании комплексов с реагентами, не являются высокоспецифичными и не способны зафиксировать весь спектр метаболитов NO в живых тканях.

Разработанный нами совместно с Федеральным исследовательским центром химической физики РАН ферментный сенсорный метод основан на обратимом ингибировании каталазы всеми нитрозосоединениями, исходно имеющими NO^+ - группу, или приобретающими ее под действием ряда факторов. Галоид-ионы увеличивают эффективность ингибирования на два порядка. Нитрозосоединения теряют ингибирующие свойства под действием ряда веществ, специфической для каждой их группы. Такой подход позволяет определять концентрацию S-нитрозотиолов, ДНКЖ, нитрита и нитрозоаминов с точностью до 50 нМ. Другие ингибиторы

каталазы не обладают такими особенностями и не содержатся в норме в живых тканях в количествах, достаточных для привнесения значительных помех [2]. Так как разложение перекиси водорода каталазой – высокоэкзотермичный процесс, контролировать его кинетику и определять активность фермента возможно с помощью высокочувствительного динамического калориметра. Такая методика не требует предварительной очистки образца, так как его окрашенность и мутность не являются помехой.

При помощи данного метода и сравнения его данных с данными ЭПР и других методик установлено, что ДНКЖ действительно составляют основу пула доноров NO в большинстве тканей. Но, вопреки распространенным представлениям, спонтанного разрушения комплекса с высвобождением NO, практически, не происходит. NO переходит с комплекса на мишень в момент его деструкции под действием хелаторов железа, более мощных, чем лиганды, входящие в состав комплекса. Причем переход осуществляется с минимальным пребыванием NO в свободном состоянии. В случае, если мишень отсутствует, но комплекс подвергается воздействию мощного хелатора, образуется железо-нитрозильный комплекс, содержащий хелатор, в качестве лиганда. Мы предполагаем, что части апофермента некоторых ферментов – мишеней NO могут выступать в роли хелаторов – конкурентов.

Таким образом, физиологический эффект соединений – доноров NO зависит не от их способности диссоциировать с высвобождением NO, но, прежде всего от наличия и состояния физиологической мишени. Не NO случайно находит мишень, а мишень, взаимодействует с донором – NO, вызывая его деструкцию и присоединяя NO. Также эффективность ДНКЖ как донора NO зависит от состава комплекса. Комплекс, имеющий лиганды с высоким сродством к железу, труднее поддается деструкции, необходимой для передачи NO на мишень. Это показано как на модельных системах, так и на живых организмах [3].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 20-016-00204-а.

1. Vanin A., Borodulin R., Mikoyan V. Dinitrosyl iron complexes with natural thiol-containing ligands in aqueous solutions: Synthesis and some physico-chemical characteristics (A methodological review) // Nitric Oxide. 2017, vol. 66, pp. 1-9. doi: 10.1016/j.niox.2017.02.005

2. Titov V., Osipov A. Nitrite and Nitroso Compounds can serve as Specific Catalase Inhibitors // Redox Rep., 2017, vol. 22, no. 2, pp. 91-97.

3. Titov V., Dolgorukova A., Fisinin V. et al. The role of nitric oxide (NO) in the body growth rate of birds // World Poultry Science Journal, 2018, vol. 74, no. 4, pp. 675-686. doi: 10.1017/S0043933918000661

ФАЗОВЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И КОЛЕБАНИЯМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ МИКРОГЕМОДИНАМИКИ ВЕРХНИХ И НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У ЧЕЛОВЕКА

Phase Relationships between Heart Rate Variability and Peripheral Microhemodynamic Oscillations of the Upper and Lower Extremities in Humans

Тихонова И.В., Гриневич А.А., Танканаг А.В.

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, *tav@icb.psn.ru*

Сердечно-сосудистая система (ССС) человека представляет собой замкнутую систему, в которой наблюдаются колебания различного генезиса. Некоторые колебания имеют центральное происхождение, в то время как другие регулируются не только центральными, но и местными механизмами. Анализ variability сердечного ритма (ВСР) позволяет оценить вклад симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы в регуляцию сердечной деятельности. Функции крупных центральных и мелких периферических сосудов регулируются разными физиологическими факторами, которые могут быть ответственны за генерацию колебаний скорости кровотока. Существуют различные неинвазивные методы мониторинга периферической микрогемодинамики, среди которых наиболее доступными и востребованными являются лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и фотоплетизмография (ФПГ). Фазовые взаимодействия между различными физиологическими параметрами определяют нормальное функционирование ССС, однако они мало исследованы. Целью работы было оценить фазовые взаимосвязи между вегетативной нервной регуляцией частоты сердечных сокращений и периферической микрогемодинамикой верхних и нижних конечностей у здоровых добровольцев в состоянии покоя.

В исследовании принимали участие 22 условно здоровых нормотензивных испытуемых (9 женщин и 13 мужчин, средний возраст 33 ± 8 лет). Во время измерения участники находились в положении лежа на спине в тихой комнате при $20-24$ °С после 20-минутной предварительной адаптации. Для каждого испытуемого одновременно регистрировали шесть 15-минутных записей – электрокардиограмму (ЭКГ), дыхательный ритм, фотоплетизмограммы с двух участков (указательный палец правой руки и второй палец правой ноги) и ЛДФ-граммы с двух участков кожи (наружная поверхность правого предплечья вблизи лучезапястного сустава и наружная поверхность правой стопы между головками 1й и 2й плюсневых костей). Для регистрации ЭКГ и дыхательного ритма использовали аппаратно-программный комплекс «ВНС-Микро» («Нейрософт», Россия). ЭКГ регистрировали во II стандартном отведении, а дыхательный ритм – посредством температурного датчика,

расположенного в области рта и носа. В сигналах ЭКГ выделяли QRS-комплексы для преобразования в последовательности RR-интервалов (кардиоинтервалограммы), которые в дальнейшем использовали для анализа ВСР. Кожную перфузию регистрировали при помощи двухканального доплеровского флоуметра ЛАКК-02 («ЛАЗМА», Россия, длина волны 1,06 мкм, мощность излучения 1,2 мВт). Динамику кровенаполнения регистрировали при помощи двухканального фотоплетизмографа «Ангиоскан» («Ангиоскан-Электроникс», Россия, длины волн 665 и 935 нм). Степень фазовой синхронизации всех зарегистрированных сигналов определяли по величине функции фазовой вейвлет-когерентности.

В ходе проведенного исследования обнаружена высокая фазовая синхронизация между колебаниями кожной микрогемодинамики предплечья/стопы и колебаниями кровенаполнения подушечек пальцев обеих конечностей в области низких частот (0,0095–0,1 Гц) и на частоте сердечных сокращений (~ 1 Гц). Анализ фазовых взаимосвязей колебаний скорости кожного кровотока и колебаний кровенаполнения подушечки пальца с ВСР показал следующее. Как для скорости кожного кровотока обоих участков кожи (предплечье и стопа), так и для кровенаполнения подушечек пальцев обеих конечностей наблюдается высокая фазовая синхронизация на частотах ~ 0,01 Гц и ~ 0,1 Гц. На частоте ~ 0,3 Гц выявлена высокая фазовая синхронизация между ВСР и колебаниями кровенаполнения подушечек пальцев руки/ноги, и низкая фазовая синхронизация между ВСР и колебаниями скорости кожного кровотока предплечья/стопы. Сходные результаты получены и для фазовой синхронизации между колебаниями скорости кожного кровотока предплечья/стопы и кровенаполнения подушечек пальцев руки/ноги с дыхательным ритмом. Выявлена высокая фазовая синхронизация между дыхательным ритмом и колебаниями кровенаполнения подушечек пальцев обеих конечностей на частоте ~ 0,3 Гц, и низкая фазовая синхронизация – для колебаний кожной микрогемодинамики предплечья/стопы.

Таким образом, проведено исследование фазовых взаимодействий между ВСР, дыхательным ритмом, колебаниями кожной перфузии участков кожи обеих конечностей и колебаниями кровенаполнения подушечек пальцев руки/ноги у здоровых добровольцев в состоянии покоя. Обнаружено, что колебания скорости кровотока кожи и колебания кровенаполнения подушечек пальцев показывают разные фазовые взаимоотношения с ВСР и дыхательным ритмом, которые не зависят от конечности. Мы полагаем, что выявленные различия могут быть обусловлены особенностями вегетативной нервной регуляции периферической микрогемодинамики: парасимпатическая составляющая вносит высокий вклад в регуляцию тонуса сосудов подушечек пальцев руки и ноги в отличие от микрососудов кожи предплечья и стопы. Однако высказанные предположения требуют проведения дополнительных исследований с использованием различных функциональных тестов, например, дыхательных проб.

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА КИНЕТИКУ ДЫХАТЕЛЬНОГО ОТВЕТА ФАГОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА **Modifying Effect of Elevated Temperature on the Kinetics of the Respiratory Response of Phagocytes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus**

Тихонова И.В.¹, Гусева И.Е.², Сафронова В.Г.¹

¹ Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ, *irinka_ti27@mail.ru*

² Больница Пущинского научного центра РАН, г. Пущино, РФ

Существует тесная связь развития и прогрессирования сахарного диабета 2 типа (СД2Т) с гипергликемией, вызванным гипергликемией окислительным стрессом и воспалением [1]. Показано, что риск развития СД2Т связан с хроническим воспалением слабой степени, которое способствует резистентности к инсулину и формированию особенностей метаболического синдрома, включающего гипергликемию. Создается порочный круг: окислительный стресс стимулирует выработку медиаторов воспаления, которые, в свою очередь, потенцируют выработку активных форм кислорода (АФК), что усугубляет состояние. Однако особенности генерации АФК фагоцитами в цельной крови у больных СД2Т мало изучены. Ранее мы показали модифицированную кинетику генерации АФК в периферической крови у больных СД2Т: значения кинетических параметров ответа на опсонизированный зимозан (ОЗ) были выше у больных, чем у здоровых, а также показана нарушенная Ca²⁺-зависимая регуляция NADPH оксидазы у больных [2]. Известно, что воспалительные реакции сопровождаются повышением температуры, а при СД2Т температура сама по себе считается осложнением. Однако кинетика дыхательного ответа фагоцитов в условиях повышенной температуры у пациентов с СД2Т не изучена.

Цель работы – исследовать кинетику дыхательного ответа на микробные частицы в нефракционированной крови и Ca²⁺-зависимую регуляцию активации NADPH оксидазы в изолированных нейтрофилах у больных СД2Т в условиях повышенной температуры.

В исследовании принимали участие 20 больных СД2Т и 20 условно здоровых испытуемых без острых и хронических патологий (контроль). Генерацию АФК в нефракционированной крови и изолированных гранулоцитах оценивали по интенсивности люминол-зависимой хемиллюминесценции (ХЛ). Дыхательный взрыв в образцах крови инициировали ОЗ в дозах от 3,9 до 250 мкг/мл, в изолированных нейтрофилах генерацию АФК стимулировали кальциевым ионофором иономицином (0,01 до 0,5 мкМ) и/или 1 мкМ форболовым эфиром,

прямым активатором протеинкиназы С. Рассчитывали следующие кинетические параметры: лаг-период, скорость развития и амплитуда ответа, продукция АФК, время до максимума (Тмакс). Образцы крови и изолированных клеток инкубировали 30 мин при 40°C, затем также при 40°C регистрировали базовый уровень ХЛ и ответ на указанные стимулы.

Получены следующие результаты: в крови испытуемых обеих групп при повышенной температуре (40°C) наблюдалось снижение всех кинетических характеристик фагоцитоз-зависимой генерации АФК по сравнению с их значениями при 37°C. При повышенной температуре кинетические параметры ответа клеток на ОЗ в крови у больных СД2Т достоверно отличались от таковых у здоровых добровольцев: скорость развития ответа, амплитуда, продукция АФК были выше, а Тмакс был ниже. При этих условиях соотношение величин лаг-периода ответов у больных СД2Т и здоровых добровольцев зависело от дозы ОЗ: при низких дозах у больных он был выше, при высоких - ниже контрольных. При 40°C амплитуда ответа изолированных нейтрофилов на иономицин (0,01-0,5 мкМ) у больных была достоверно ниже, чем в контроле, также как скорость развития ответа и продукция АФК при концентрации 0,5 мкМ. Параметры синергического ответа (скорость развития, амплитуда и продукция АФК) при совместном действии иономицина (0,01 и 0,1 мкМ) и форболового эфира были достоверно выше у больных СД2Т по сравнению с контролем при повышенной температуре, тогда как при 37°C наблюдалось обратное соотношение.

Таким образом, полученные данные по изменениям кинетики генерации АФК и Ca²⁺-зависимых процессов активации NADPH оксидазы у больных СД2Т при высокой температуре указывают на изменения кальциевого гомеостаза, связанные с проницаемостью эндоплазматического ретикулаума и его способностью к депонированию кальция. Вероятно, хронические нарушения метаболизма при СД2Т ограничивают адаптационные возможности организма, что проявилось в характерных особенностях кинетики дыхательного ответа и механизмов его регуляции при действии повышенной температуры.

1. Oguntibeju O.O. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links // Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol., 2019, vol. 11, no. 3, pp. 45-63.

2. Tikhonova I.V., Grinevich A.A., Guseva I.E., Safronova V.G. Modified kinetics of generation of reactive species in peripheral blood of patients with type 2 diabetes // Free Radical Biology and Medicine, 2020, vol. 159, pp. 76-86.

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ МЕТАЛЛОВ ГЕМОГЛОБИНОМ МЕТОДОМ РЕНТГЕНОВСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ПОГЛОЩЕНИЯ

Studies of Metal Binding by Hemoglobin using X-Ray Absorption Spectroscopy

Топунов А.Ф.¹, Космачевская О.В.¹, Новикова Н.Н.², Якунин С.Н.²

¹ Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ, afopunov@yandex.ru

² Научно-исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва, РФ

Гем- и, соответственно, железосодержащий белок гемоглобин (Hb), как и многие другие, способен связывать ионы металлов и на белковой части. Fe и Zn, в больших количествах накапливающиеся в крови, в том числе у больных рядом заболеваний, например, хронической почечной недостаточностью и сахарным диабетом [1], способны формировать такие комплексы. Способность Hb связывать ионы Zn была показана достаточно давно [2], а, поскольку внешние факторы существенно влияют на связывание белками ионов металлов, мы изучали влияние слабых денатурирующих воздействий на способность белковой части Hb связывать ионы Fe и Zn. Выбор Hb, транспортного кислородпереносящего белка, был обусловлен и тем, что при эндогенной интоксикации в первую очередь нарушается функционирование системы крови, выполняющей интегративные функции.

Hb содержит атомы железа в составе гема, что облегчает получение структурной информации о нем методом стоячих рентгеновских волн [3]. Для цели наших исследований была использована разновидность рентгеновской спектроскопии – определение околопороговой тонкой структура рентгеновского спектра поглощения (X-ray absorption near edge structure – XANES). Анализ XANES-спектров позволяет определять координаты окружающих атомов, межатомные расстояния, локальную симметрию окружения. Новые возможности для изучения металлопротеинов открывают измерения XANES-спектров во флуоресцентной моде в условиях полного внешнего отражения. В нашей работе были проведены XANES-измерения для пленок Hb, сформированных на поверхности жидкости, когда не нарушается нативная конформация белковых молекул и сохраняются их биологические функции. Было исследовано действие на Hb одного из наиболее известных “умеренческих” токсикантов – мочевины. Опыты проводили на экспериментальной станции «Ленгмюр» Курчатовского источника синхротронного излучения (Москва, Россия).

В наших исследованиях был впервые установлен факт образования дополнительных высокоаффинных центров связывания металлов (Zn и Fe) на Hb в условиях, моделирующих эндогенную интоксикацию [4, 5]. Связанные ионы Zn координируются в кластер с четырехкоординатным окружением, где двумя лигандами являются остатки цистеина и гистидина, а другими двумя лигандами могут быть карбоксильная группа

аминокислотного остатка и молекула воды. Наиболее предпочтительными для связывания Zn и Fe являются остатки цистеина, константа связывания с которым на 4-5 порядков выше, чем с имидазолом гистидина.

Нами был предложен механизм возникновения дополнительных центров связывания металлов под действием повреждающих факторов. При переходе таких глобулярных белков, как гемоглобин и миоглобин, из нативного состояния в состояние расплавленной глобулы при слабых повреждающих воздействиях, повышается доступность и реакционная способность SH-групп «скрытых» остатков цистеина. Сначала происходит лабилизация конформации Hb с демаскировкой «скрытых» цистеинов, после чего образуются интермедиаты окисления их SH-групп, выступающих лигандами для формирования комплексов с Zn. Полученные результаты позволяют помочь в понимании механизмов возникновения многих патологий при эндогенной интоксикации.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-29-12052) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

1. Гарипова М.И., Ильина О.С., Буторина О.Л. и др. Повышение общей концентрации катионов цинка и снижение концентрации лабильного цинка в крови больных сахарным диабетом типа I // *Фундаментальные исследования*, 2013, № 4, ч. 2, с. 368-370.

2. Arnone A., Williams D. The binding of zinc to human deoxyhemoglobin and its possible relevance to the anti-sickling effect of zinc // *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1977, vol. 14, pp. 317-328.

3. Ковальчук М.В., Новикова Н.Н., Якунин С.Н. Стоячие рентгеновские волны и биологическое материаловедение // *Природа*, 2012, № 12, с. 3-14.

4. Novikova N.N., Kovalchuk M.V., Yurieva E.A. et al. The enhancement of metal-binding properties in hemoglobin: the role of mild damaging factors // *J. Phys. Chem. B*, 2019, vol. 123, pp. 8370-8377.

5. Новикова Н.Н., Якунин С.Н., Ковальчук М.В. и др. Возможности рентгеновской абсорбционной спектроскопии в геометрии полного внешнего отражения для исследования белковых пленок на жидкости // *Кристаллография*, 2019, т. 64, с. 945-951.

МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА, СИНТЕЗИРОВАННЫЕ В ПРИСУТСТВИИ ЭКСТРАКТА КОРЫ ДУБА: ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И СВОЙСТВ Magnetic Iron Oxide Nanoparticles Synthesized in the Presence of Oak Bark Extract: Features of Structure and Properties

Тюменцева А.В.¹, Ярославцев Р.Н.^{1,2}, Герасимова Ю.В.², Черемискина Е.В.¹, Столяр С.В.^{1,2}

¹ Красноярский научный центр СО РАН, г. Красноярск, РФ, komivlann@yandex.ru

² Институт физики им. Л.В. Киренского ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ

Окислительные свойства оксидов металлов являются одной из причин затруднений при использовании магнитных наночастиц в биомедицине. Наиболее биосовместимыми считаются соединения железа, серебра, золота. Однако в процессе химического синтеза таких композитов возникают соединения, обладающие токсичностью для живых объектов, главным образом за счет окисления молекул, высвобождения реактивных форм кислорода в клетках. В последнее время активно исследуются возможности создания наноконструкций, содержащих в своем составе антиоксидантные молекулы, способные скомпенсировать окислительное повреждение биологических объектов. Так, рассматривается возможность создания комплексов с флавоноидами, аскорбиновой, галловой кислотами [1, 2].

Все больше внимания исследователей привлекает так называемый «зеленый» синтез магнитных наночастиц с использованием природных антиоксидантов, заключенных в растениях. Использование в реакции богатых флавоноидами экстрактов позволяет создавать магнитные наноконструкции с меньшей цитотоксичностью, чем частицы, полученные стандартным химическим синтезом, при этом обеспечивая невысокую стоимость и экологичность продуктов [3].

Кора дуба является ценным природным материалом, нашедшим применение в медицине. Она богата полифенолами и флавоноидами, обладающими высокими антиоксидантными, противовоспалительными и антимикробными свойствами [4]. Это делает ее перспективным компонентом в реакции «зеленого» синтеза магнитных наночастиц.

Целью настоящей работы было создать магнитные наночастицы на основе оксида железа с использованием экстракта коры дуба, исследовать их физические свойства и оценить цитотоксичность *in vitro*.

Наночастицы синтезировали посредством осаждения солей железа FeCl₃ и FeCl₂ в молярном соотношении 2:1, растворенных в воде с добавлением экстракта коры дуба. Осаждение производили добавлением в раствор водного аммиака (25%) до достижения pH 10-11. Полученный осадок отмывали дистиллированной водой до нейтрализации pH. Исследование частиц производили методами просвечивающей электронной микроскопии, ИК-Фурье спектроскопии, мессбауэровской спектроскопии. Оценку цитотоксичности производили на культуре астроцитов крысы посредством исследования изменения метаболической активности клеток в присутствии наночастиц (МТТ-тест). Показано изменение токсических свойств магнитных наночастиц при синтезе с участием экстракта коры дуба.

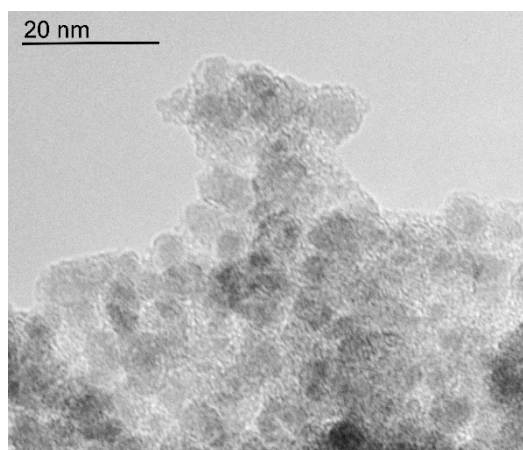


Рисунок 1. Изображение магнитных наночастиц оксида железа, синтезированных в присутствии экстракта коры дуба, полученное с помощью просвечивающего электронного микроскопа

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 20-42-242902.

1. Mira L., Tereza Fernandez M., Santos M. et al. Interactions of Flavonoids with Iron and Copper Ions: A Mechanism for their Antioxidant Activity // *Free Radical Research*, 2002, vol. 36, pp. 1199-1208. doi: 10.1080/1071576021000016463
2. Dorniani D., Kura A.U., Ahmad Z. et al. Preparation of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles coated with gallic acid for drug delivery // *International Journal of Nanomedicine*, 2012, p. 5745. doi: 10.2147/IJN.S35746
3. Yew Y.P., Shameli K., Miyake M. et al. Green biosynthesis of superparamagnetic magnetite Fe₃O₄ nanoparticles and biomedical applications in targeted anticancer drug delivery system: A review // *Arabian Journal of Chemistry*, 2020, vol. 13, pp. 2287-2308. doi: 10.1016/j.arabjc.2018.04.013
4. Drózdź P., Pyrzynska K. Assessment of polyphenol content and antioxidant activity of oak bark extracts // *European Journal of Wood and Wood Products*, 2018, vol. 76, pp. 793-795. doi: 10.1007/s00107-017-1280-x

СЕРЕБРЯНЫЕ НАНОКЛАСТЕРЫ НА КВАДРУПЛЕКСНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ДНК

Silver Nanoclusters Templated by Quadruplex DNA Sequences

Фаткуллин Т.М., Бениаминов А.Д., Калужный Д.Н.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, РФ, *Fatkullin.TM@phystech.edu*

G-квадруплексы (G4-структуры) – неканонические структуры ДНК, могут формироваться в особых богатых гуанином областях генома (PQS, potential quadruplex-forming sequences). Одним из перспективных подходов к исследованию конформационных возможностей ДНК и выявлению G-квадруплексов на участках геномной ДНК может оказаться применение ДНК-стабилизированных серебряных нанокластеров (DNA-AgNCs) – уникальных нанообъектов, способных к самосборке в водном растворе, многие из которых флуоресцируют в видимом диапазоне [1].

Для экспериментов был выбран двухцепочечный фрагмент генома человека длиной 66 пар оснований, содержащий последовательность T(G₃T)₄, способную формировать стабильную G4-структуру. Ренатурация в присутствии G4-специфичного лиганда пиридостатина (PDS, pyridostatin) переводило центральную часть этого фрагмента из двойной спирали в альтернативную форму ДНК – G-квадруплекс. Конформационный переход наблюдался по изменению подвижности фрагмента в полиакриламидном геле (рис. 1, а), а также подтверждался зондированием структуры ДНК ферментами: нуклеазой S1 и ДНКазой I.

Серебряные нанокластеры формировали на обеих структурах двухцепочечной ДНК (дуплекс и G-квадруплекс), а также на отдельных нитях, используя AgNO₃ в качестве источника ионов серебра и восстановитель NaBH₄. Изучены оптические характеристики полученных образцов: спектры возбуждения и испускания флуоресценции, время жизни возбуждённого состояния, поляризация флуоресценции. Показано, что наиболее интенсивной флуоресценцией обладали серебряные кластеры, сформированные именно на дуплексе ДНК в качестве матрицы, что также было подтверждено методом сравнения подвижности в полиакриламидном геле (рис. 1, б). Мы показали, что за формирование этих ярко флуоресцирующих нанокластеров в протяжённом

дуплексе ответственен богатый GC-парами участок ДНК, соответствующий PQS. Полученные результаты

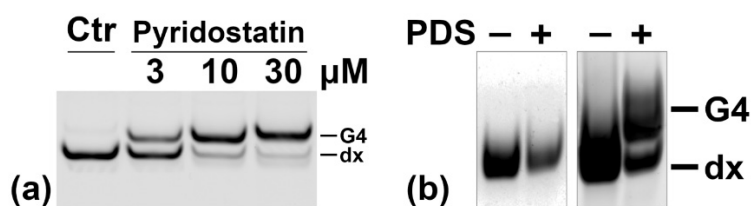


Рисунок 1. (a) индукция G-квадруплекса в двойной спирали ДНК при различных концентрациях лиганда; (b) сравнение подвижности DNA-AgNCs: слева – собственная флуоресценция кластеров, справа – гель после окрашивания GelGreen; G4 – G-квадруплекс, dx – дуплекс

позволяют говорить об аномальной флуоресценции DNA-AgNCs, полученных на ДНК-матрице, которая содержала квадруплексную последовательность. Известные в литературе данные говорят о значительно менее интенсивной или вовсе не детектируемой в видимой области флуоресценции кластеров, сформированных на двухцепочечных ДНК-матрицах, по сравнению с образцами, полученными на одноцепочечных матрицах [2]. Подход, основанный на сравнении флуоресцентных характеристик серебряных нанокластеров, собранных на разных структурах одной и той же матрицы ДНК, может быть использован для детектирования альтернативного фолдинга ДНК.

1. Gwinn E., Schultz D., Copp S.M., Swasey S. DNA-Protected Silver Clusters for Nanophotonics // *Nanomaterials* (Basel), 2015, vol. 5 (1), pp. 180-207. doi: 10.3390/nano5010180

2. Li W., Liu L., Fu Y. et al. Effects of polymorphic DNA on the fluorescent properties of silver nanoclusters // *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2013, vol. 12 (10), pp. 1864-1872. doi: 10.1039/c3pp50026h

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ НА РЕАКЦИЮ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

The Influence of Acute Phase Proteins of Inflammation on the Respiratory Burst Reaction of Peripheral Blood Neutrophils

Федорова Н.Д., Сумбатян Д.А., Варфоломеева Е.Ю.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина, РФ, varfolomeeva_ey@pnpi.nrcki.ru

Изучение воспалительных реакций в организме дает важнейшую информацию для коррекции патологических процессов. Острая воспалительная реакция на вторжение патогенов и повреждение тканей сопровождается миграцией определенных популяций лейкоцитов в пораженные ткани для создания первоначального врожденного иммунного ответа. Выход полиморфноядерных нейтрофилов (PMN) из крови в ткани является центральным событием в этом процессе. Нейтрофилы – наиболее многочисленная субпопуляция циркулирующих в крови лейкоцитов, они составляют первую линию защиты системы врожденного иммунитета. Поэтому актуальной задачей представляется исследование их функциональной активности, в частности реакции респираторного взрыва (РРВ) и влияния на нее различных агентов. Нейтрофилы генерируют активные формы кислорода (АФК) во время РРВ и используют их для уничтожения захваченных агентов. Крайне важно тщательно регулировать такой процесс из-за повреждающего воздействия перепроизводства АФК на окружающие ткани.

В нашей работе для оценки интенсивности реакции респираторного взрыва (РРВ) в нейтрофилах периферической крови мы использовали разработанный нами ранее проточнотометрический метод [1,2]. Этот метод отличается тем, что позволяет получить «стандартное распределение» нейтрофилов здоровых доноров по способности продуцировать АФК [2]. Разница в реакции между средними значениями интенсивности РРВ для здоровых доноров составляла не более 8.4%. Для людей с различными патологиями способность продуцировать АФК нейтрофилами периферической крови значительно отличалась от «нормы».

Для понимания того, что влияет на изменение функциональной активности нейтрофилов (а именно, интенсивности РРВ) была проведена замена плазмы крови донора с праймированными нейтрофилами на плазму здорового донора. В результате распределение интенсивности РРВ снова стало нормальным. Этот результат позволил нам сделать предположение о наличии праймирующих агентов в плазме крови. В качестве объектов исследования были выбраны четыре белка острой фазы воспаления (БОФ) (С-реактивный белок (CRP), сывороточный амилоид А (SAA), альфа-1-кислый гликопротеин (α1AGP) и фибриноген). Выбор был обусловлен двумя причинами: во-первых, максимальное изменение их концентрации в крови совпадает по времени с максимальным праймированием нейтрофилов при ОРВИ. Во-вторых, изменения концентрации С-реактивного

белка и сывороточного амилоида А принято считать стандартными маркерами воспаления, а фибриноген может модулировать модель активации нейтрофилов и, таким образом, способствовать привлечению нейтрофилов [3].

Принимая во внимание наличие стандартного распределения нейтрофилов по их способности генерировать АФК у здоровых доноров [2], мы сравнили это стандартное распределение с распределением, полученным для образцов периферической крови с добавлением белков интереса. Добавление SAA не влияло на распределение активности нейтрофилов, как и добавление a1AGP. Добавление CRP приводило к снижению интенсивности РРВ, в то время как добавление CRP совместно с SAA возвращало распределение интенсивности РРВ к норме. Добавление фибриногена значительно повышало интенсивность РРВ, однако, в отличие от CRP, добавление фибриногена совместно с SAA не влияло на этот эффект (не возвращало интенсивность РРВ к норме). Стоит отметить, что добавление a1AGP к образцу совместно с фибриногеном также не приводило к изменениям эффекта.

Результаты нашего исследования подтверждают предположение о том, что некоторые БОФ могут влиять на функциональную активность нейтрофилов периферической крови. Взаимодействие БОФ с нейтрофилами может происходить на стадии прайминга последних. Показано влияние CRP и фибриногена на интенсивность РРВ нейтрофилов периферической крови. Кроме того, получены некоторые интригующие данные о совместном влиянии белков на функциональную активность нейтрофилов. Все это может служить подтверждением влияния БОФ на реализацию нейтрофилами своей функции.

1. Filatov M., Varfolomeeva E., Ivanov E. Flow cytofluorometric detection of inflammatory processes by measuring respiratory burst reaction of peripheral blood neutrophils // *Biochem. Mol. Med.*, 1995, vol. 55, no. 2, pp. 116-121.

2. Варфоломеева Е.Ю. и др. Регистрация воспалительных процессов при различных заболеваниях методом проточной цитофлюорометрии // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2010, т. 149, № 4, с. 471-475.

3. de Almeida V.V., Calado A., Rosário H.S., Saldanha C. Differential effect of soluble fibrinogen as a neutrophil activator // *Microvasc Res*, 2012.

ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ ВЛИЯЮТ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Viral Infections Affect the Functional Activity of Peripheral Blood Neutrophils

Федорова Н.Д.¹, Сумбатян Д.А.¹, Стукова М.А.², Иванов А.В.³, Семенова Е.В.¹, Филатов М.В.¹, Варфоломеева Е.Ю.¹

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина, РФ, fedorova_nd@pnpi.nrcki.ru

² НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева, г. Санкт-Петербург, РФ

³ Клиника высоких медицинских технологий СПбГУ им. Н.И. Пирогова, г. Санкт-Петербург, РФ

Нейтрофилы представляют собой первую линию защиты системы врожденного иммунитета. Они уничтожают различные патогенные микроорганизмы (бактерии, грибы, вирусы) на ранних стадиях инфекции при помощи фагоцитоза и реакции респираторного взрыва (РРВ) [1-3].

Для оценки интенсивности реакции респираторного взрыва (РРВ) в нейтрофилах периферической крови использовался проточнocyтoмeтpичeский метод, разработанный в лаборатории клеточной биологии НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ [4,5]. В качестве красителя использовался гидроэтидин, окисляющийся только радикалами кислорода (продуктами первой стадии РРВ, запускающими дальнейший каскад реакций), обеспечивающий высокую точность исследования. Стимуляция РРВ осуществлялась при помощи форболового эфира (РМА). С использованием этого метода было установлено «стандартное распределение» нейтрофилов здоровых доноров по способности продуцировать АФК [5]. Разница в реакции между средними значениями составляла не более 8.4%.

В то же время заболевание, сопровождающееся тяжелыми воспалительными процессами, привело к изменению способности нейтрофилов к РРВ в ответ на стимуляцию РМА. На цитометрической гистограмме это выглядит как смещение распределения относительно нормы. Для большинства патологий наблюдался сдвиг к началу координат [5].

В данном исследовании было показано повышение интенсивности РРВ в нейтрофилах периферической крови при ОРВИ (сдвиг распределения интенсивности вправо относительно нормы). Этот факт позволяет предположить наличие первичного состояния нейтрофилов, индуцированного вирусной инфекцией. Эффект праймированности нейтрофилов наблюдается у доноров с ОРВИ, первые симптомы которого появились примерно за два дня до забора крови.

На основании исследования динамики ОРВИ можно сделать вывод, что способность нейтрофилов к РРВ увеличивается в первые 48 часов заболевания, а затем возвращается к норме в случае выздоровления. Данные, полученные на 3-й день, не представлены, так как пик совпадает с нормальным распределением на 1-й день.

При возникновении бактериальных осложнений наблюдалось снижение способности нейтрофилов к РРВ вместо возврата к норме.

С целью дальнейшего изучения наблюдаемого эффекта были проведены измерения функциональной активности нейтрофилов здоровых людей после вакцинации противогриппозными вакцинами. Основываясь на результатах вышеописанного эксперимента, измерения производили в день вакцинации и через 48 часов после неё. Исследование показало, что инактивированная вакцина не оказывает никакого влияния на функциональную активность нейтрофилов, в то время как треть вакцинированных “живой” гриппозной вакциной ЖГВ продемонстрировали изменение данной активности, аналогичное первоначальному исследованию больных с ОРВИ. В обоих экспериментах выборка составила 6 человек.

Кроме того, мы проанализировали 42 образца крови, взятых у доноров, которые прошли исследование на наличие антител (IgA, IgM, IgG) к SARS-CoV-2. Из 13 образцов крови, которые характеризовались высоким уровнем IgA (отношение $>0,8$) и низким уровнем IgG (отношение $<0,3$), 9 (69,2%) показали увеличение интенсивности РРВ на 10-15% (3 образца также показали наличие IgM к SARS-CoV-2). Еще один пациент из этой группы (7,7%) продемонстрировал увеличение интенсивности РРВ на 8%. Образцы крови, характеризующиеся другими комбинациями концентраций антител, продемонстрировали нормальную способность нейтрофилов к РРВ. Таким образом, в 23,8% анализируемых образцов крови выявлено увеличение интенсивности РРВ на 8-15%, и в крови этих пациентов наблюдался высокий уровень IgA и низкий уровень IgG к SARS-CoV-2.

Чтобы определить, является ли праймирующий агент элементом плазмы крови, полученную от здорового донора плазму добавляли к образцам крови, собранным в 1-й день ОРВИ. В результате распределение интенсивности РРВ вернулось к нормальному.

Полученные результаты могут быть свидетельством опосредованного влияния, оказываемого вирусами (вирусными инфекциями) на функциональную активность нейтрофилов, а именно на их способность к реакции респираторного взрыва. Также представленные результаты позволяют предположить, что это влияние опосредовано и осуществляется через провоспалительные факторы плазмы крови.

1. Kaufmann S.H. Immunology's foundation: the 100-year anniversary of the Nobel Prize to Paul Ehrlich and Elie Metchnikoff // *Nat. Immunol.*, 2008, vol. 9, pp. 705-712.

2. Nordenfelt P., Tapper H. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils // *J. Leukoc. Biol.*, 2011, vol. 90, pp. 271-284.

3. Leto T.L., Geiszt M. Role of Nox family NADPH oxidases in host defense // *Antioxid. Redox Signal.*, 2006. Vol. 8, pp. 1549-1561.

4. Filatov M., Varfolomeeva E., Ivanov E. Flow cytometric detection of inflammatory processes by measuring respiratory burst reaction of peripheral blood neutrophils // *Biochem. Mol. Med.*, 1995, vol. 55, no. 2, pp. 116-121.

5. Варфоломеева Е. Ю. и др. Регистрация воспалительных процессов при различных заболеваниях методом проточной цитофлюорометрии // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2010, т. 149, № 4, с. 471-475.

АКТИВНОСТЬ МИКРОСОМАЛЬНЫХ РЕДУКТАЗ У ПАЦИЕНТОК С АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЭНДОМЕТРИЯ

Activity of Microsomal Reductases in Patients with Endometrial Adenocarcinoma

Федорова М.В., Вознесенский В.И., Харченко А.А., Проскурнина Е.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, theklazontag@yandex.ru

Одним из основных мест синтеза внутриклеточных АФК являются микросомальные дыхательные цепи, представляющие собой редуктазы, встроенные в мембрану эндоплазматического ретикулума и осуществляющие транспорт электронов от НАДН или НАДФН к цитохромам. НАДН-зависимая цитохром b5-редуктаза (СУВ5R) является частью трансмембранной редокс-системы, которая поддерживает в восстановленном состоянии антиоксиданты аскорбат и коэнзим Q10 и защищает клетку от апоптоза. Важнейшей задачей цепи НАДФН-зависимой цитохром Р450-редуктазы (СУРОР) является катализ метаболизма пролекарств, особенно противоопухолевых препаратов.

Перспективным методом исследования активности СУВ5R и СУРОР является люцигенин-активированная хемилюминесценция в присутствии НАДН и НАДФН, соответственно. В этом случае люцигенин напрямую восстанавливается указанными ферментами, далее в присутствии кислорода образуется супероксидный анион-радикал и возникает хемилюминесценция, интенсивность которой пропорциональна активности СУВ5R и СУРОР. В рамках исследования измеряли хемилюминесценцию образцов массой $15,5 \pm 0,5$ мг в тканях высоко-, умеренно и низкодифференцированных аденокарцином эндометрия, удаленных в ходе хирургической

операции. Из хемилуминограмм рассчитывали интенсивность собственного свечения I_0 , интенсивность стимулированного свечения $I_{\text{НАДН}}$ и $I_{\text{НАДФН}}$ и коэффициенты активации $K_{\text{НАДН}} = (I_{\text{НАДН}} - I_0)/I_0$ и $K_{\text{НАДФН}} = (I_{\text{НАДФН}} - I_0)/I_0$. Для трех параллельных измерений каждой пробы рассчитывали среднее значение указанных параметров. Разработанный подход описан в публикации [1].

Установлено, что спонтанная (базальная) хемилуминесценция не отличается значимо по подгруппам. По всем показателям, характеризующим активность СYPOR, и по коэффициенту усиления НАДН—зависимой хемилуминесценции выявлены различия между высоко- умеренно и низкодифференцированными аденокарциномами (табл. 1). Активность СYB5R при высокодифференцированном варианте больше активности при низкодифференцированном варианте в 4,4 раза. Активность СYB5R при умеренно дифференцированном варианте больше активности при высокодифференцированном варианте в 3,2 раза. Соответствующие цифры для СYPOR составляют 8,8 и 1,6.

Таблица 1. Активность цитохром b5-редуктазы и цитохром P450-редуктазы в тканях аденокарциномы эндометрия

Показатель	Аденокарцинома низкодифференцирован ная ($n = 8$)		Аденокарцинома умеренно дифференцированная ($n = 8$)		Аденокарцинома высокодифференцирован ная ($n = 7$)	
	\bar{x}	S	\bar{x}	S	\bar{x}	S
I_0	0,41	0,24	0,42	0,25	0,23	0,18
$I_{\text{НАДН}}$	1,66	0,87	16,01*	6,81	3,3	1,56
$K_{\text{НАДН}} =$ $(I_{\text{НАДН}} - I_0)/I_0$	2,94	1,92	41,82*	21,01	12,89*	3,56
$I_{\text{НАДФН}}$	1,23	0,87	11,32*	8,64	4,45*	2,71
$K_{\text{НАДФН}} =$ $(I_{\text{НАДФН}} - I_0)/I_0$	2,21	0,85	31,30*	12,36	19,60*	5,54

Таким образом, при раке эндометрия можно выделить группы низкой, умеренной и высокой активности СYB5R и СYPOR, при этом группу низкой активности составляют низкодифференцированные аденокарциномы, группу средней активности – высокодифференцированные аденокарциномы, группу высокой активности – умеренно дифференцированные аденокарциномы.

1. Proskurnina E.V., Fedorova M.V., Sozarukova M.M. et al. Microsomal reductase activity in patients with thyroid neoplasms // Endocrine, 2021, vol. 72, pp. 735-743. doi: 10.1007/s12020-020-02513-z

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ CANDIDA ALBICANS МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Study of the Physical and Chemical Properties of the Cell Wall of Candida Albicans by Atomic Force Microscopy

Филиппова Е.М., Несвижский Ю.В., Титов С.А., Глухов А.И.

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, РФ,
liza.filippova97@yandex.ru

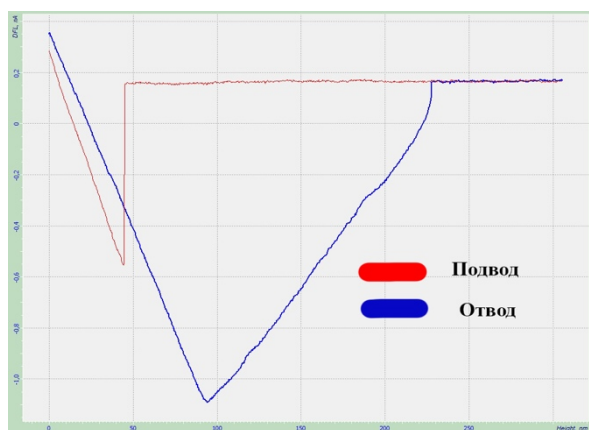
Candida Albicans – дрожжеподобный грибок, который живет на слизистых и коже людей и не вызывает инфекций. Однако, он играет роль в развитии оппортунистических инфекций у людей с иммунодефицитом. В этой работе мы бы хотели оценить возможность изучения клеточной стенки C. Albicans методом атомно-силовой микроскопии, а также сравнить режимы работы микроскопа и подобрать наиболее оптимальный для работы с грибом.

Атомно-силовая микроскопия является мощным инструментом для оценки поверхностей, в том числе клеточных стенок биологических объектов. Микроскоп способен работать в разных режимах, но в этой работе мы сравнили два из них: контактный и полуконтактный. Эти методы являются самыми популярными для работы с поверхностью биологических объектов. Сопоставление режимов проводили на штамме 30,2 C. Albicans. Методом атомно-силовой микроскопии было проведено сканирование поверхности исследуемого штамма, а также были сняты кривые зависимости силы воздействия клетки на сканирующее устройство микроскопа.

Сканирование и снятие кривых проводили в двух режимах работы микроскопа: контактном и полуконтактном, а также с использование трех сенсоров, отличающихся константой упругости: мягкий CSG 11 (константа упругости 0.03N/m), средний HA_FM/W2C (константа упругости 3,5 N/m), жесткий NSG 11 (константа упругости 5,5 N/m).

В результате были получены изображения Candida Albicans, качество которых различалось в зависимости от используемого режима и кантилевера. Опираясь на качество, контрастность, четкость изображений мы сделали вывод о том, какой режим работы прибора и какой кантилевер лучше подходят для получения изображений кандиды. Основываясь на полученных данных можно сделать вывод, что полуконтактный режим подходит лучше для оценки изображений, также стоит использовать «мягкий» или «средний». Однако, «мягкий» кантилевер в контактном режиме также работает отлично.

В каждой точке, где это возможно, мы снимали кривые зависимости DFL(Height). Искомые значения были найдены только при работе 'мягким' и 'средним' сенсорами в контактном режиме.



Кривая DFL(Height).

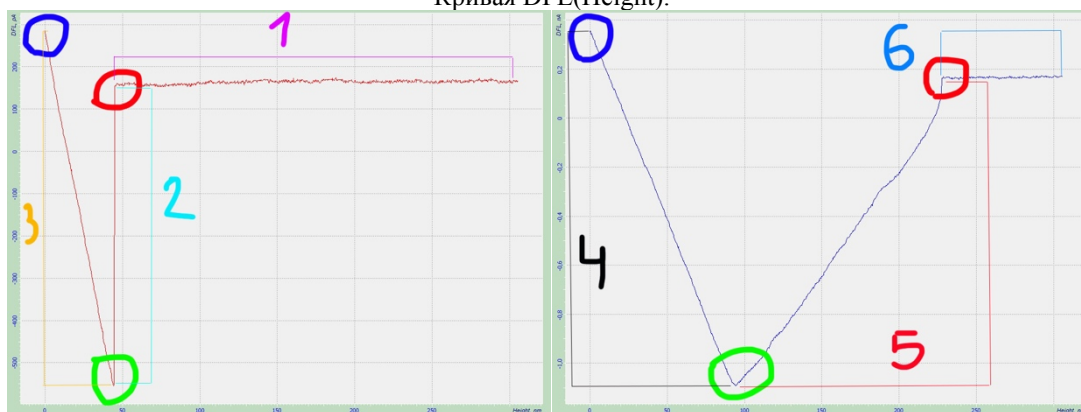


Рисунок 1. Кривые DFL(Height). Цветами обозначены точки и отрезки, изучаемые в работе. Изображение взято из программы Nova

В результате измерения кривых DFL(Height) мы сделали вывод, что показатель DFL является более чувствительным, а также показали, что средний кантилевер больше подходит для изучения Candida albicans.

**АНАЛИЗ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСОВ ПОЛИМЕТИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С БЕЛКАМИ
СЫВОРОТКИ КРОВИ МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА**
Analysis of the Properties of Polymethine Dyes Complexes with Blood Serum Proteins by gel Electrophoresis

Самцов М.П.¹, Тарасов Д.С.¹, Малюшкова Е.В.², Хлудеев И.И.^{1,3}, Луговский А.П.¹, Семак И.В.²

¹ Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко Белорусского государственного университета,
г. Минск, Беларусь

² Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

³ Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, г. Минск, Беларусь,
ivan2khl@mail.ru

Эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) во многом зависит от избирательности накопления фотосенсибилизатора (ФС) в опухолевых тканях. В этой связи большое внимание уделяется разработке новых способов адресной доставки препаратов. Один из путей решения этой задачи – связывание молекул ФС с носителями, которые обладают повышенным накоплением в опухолевых клетках. Среди подобных носителей особое внимание привлекают эндогенные переносчики, к числу которых относятся транспортные белки плазмы крови – альбумины и липопротеины.

В работе исследованы параметры связывания с белками сыворотки крови человека (СКЧ) полиметиновых (индотрикарбоцианиновых) красителей (ПК). В лаборатории спектроскопии НИУ ПФП им. Севченко БГУ на основе базового гидрофобного красителя ПК154 были синтезированы производные (ПК220 и ПК222), в которых для повышения водорастворимости две карбоксильные группы замещали молекулами полиэтиленгликоля с молекулярной массой 300 Да. При этом у ПК222, в отличие от ПК154 и ПК220, отсутствует хлорзамещенный ортофениленовый мостик.

Анализ связывания красителей с белками в растворах СКЧ и БСА выполнялся с помощью электрофореза белков по методу Лэмли в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия в восстанавливающих условиях (SDS-PAGE). Использование данной методики осложняется тем, что при окрашивании гелевых пластин раствором Кумасси и пользуются агрессивные среды, вызывающие деградацию ПК. Поэтому применяли двухэтапный метод анализа электрофореграмм: сначала проводили сканирование неокрашенных раствором Кумасси гелевых пластин, закрепленных на перемещаемой микрометрическими винтами платформе путем регистрации флуоресценции ПК в ИК области с помощью портативного лазерного спектрометра. На втором этапе для определения положения основных белковых полос проводили повторный анализ гелей после окрашивания белков. Фиксация координат относительно границ геля на каждом из этапов позволила провести совмещение распределения белков и ПК на электрофореграмме. Отсутствие деструкции красителей на стадии электрофоретического разделения белков подтверждено спектральными измерениями при моделировании соответствующих условий в кювете.

Ранее нами было показано, что добавление сыворотки в водные растворы ПК154 и ПК220 приводило к сильному bathochromному сдвигу максимумов спектров поглощения [1]. Этот эффект связан с тем, что в водных растворах (ФСБ, pH7,4) гидрофобный ПК154 находится в виде мономеров, Н- и J-агрегатов; гидрофильный ПК220 в ФСБ присутствует в виде равновесной смеси мономеров и димеров Н-типа, а молекулы ПК222 находятся преимущественно в форме мономеров. В присутствии сыворотки наблюдается частичная дезагрегация ПК, поэтому связывание молекул красителей может происходить и в мономерной, и в агрегированной формах. Выраженный сигнал флуоресценции наблюдали для ПК154 и ПК220 в растворе сыворотки человека в полосе 68 ± 4 кДа (молекулярная масса САЧ $66,5$ кДа). Это позволяет утверждать о наличии прочных комплексов ПК154 и ПК220 с молекулами альбумина. В литературе имеются данные о способности красителей с заместителем в мезо-положении полиметиновой цепи образовывать ковалентный комплекс с альбумином, наиболее вероятно – посредством взаимодействия с единственным свободным остатком Cys34 в молекуле САЧ с замещением мезо-S1 в молекуле красителя. Кроме того, сигнал флуоресценции обнаружен вблизи полосы белков с молекулярной массой (25 ± 3) кДа, соответствующей полосе аполипротеина А-I (АроА-1, $24,7$ кДа). Данный белок является основным структурным элементом липопротеинов высокой плотности (ЛВП), и в следовых количествах присутствует в липопротеинах низкой плотности (ЛНП). Для ПК222 сигнал флуоресценции обнаруживается только в области несвязанного красителя.

Полученные результаты позволяют полагать, что происходит, по всей вероятности, ковалентное связывание трикарбоцианиновых красителей с альбумином и липопротеинами высокой плотности сыворотки крови с участием хлорзамещенного ортофениленового мостика. Полиэтиленгликоли с молекулярной массой 300 Да не влияют на эффективность образования ковалентных комплексов ПК с альбумином и ЛВП.

1. Khludeyev I.I. et al. Photophysical property of polymethine photosensitizers behavior in an aqueous solution in the presence of serum proteins // Russ. J. Biol. Phys. Chem., 2019, vol. 4 (3), pp. 409-412.

НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕАЗ, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ХИТОЗАНЕ. СТРУКТУРА, СТАБИЛЬНОСТЬ, АКТИВНОСТЬ, ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ

New Preparations of Cysteine Proteases Immobilized on Chitosan. Structure, Stability, Activity, Application Prospects

Холявка М.Г.^{1,2}, Королева В.А.³, Ольшанникова С.С.¹, Захарова Е.В.⁴, Кондратьев М.С.⁵, Артюхов В.Г.¹

¹ Воронежский государственный университет, г. Воронеж, РФ

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³ Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, РФ

⁴ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ

⁵ Институт биофизики клетки РАН, г. Пушкино, Московская обл., РФ

Бромелин, папаин и фицин представляют собой цистеиновые протеазы (КФ 3.4.22). Они с успехом используются в пищевой промышленности: для тендеризации мяса, гидролиза глютена пшеницы, изготовления различных соусов и сыровяленой ветчины, при производстве сыра, в пивоваренной промышленности. Бромелин, папаин и фицин имеют статус GRAS федерального агентства США (CFR 1999, 2009).

Цистеиновые протеазы растений имеют ограниченное применение из-за их короткого времени жизни (в частности, из-за автолиза), нестабильной структуры и высоких затрат на выделение и очистку. Следовательно, повышение стабильности ферментов может решить эти проблемы и расширить горизонты их практического использования.

Связанные с носителем ферменты являются гетерогенными катализаторами и обладают рядом существенных технологических преимуществ по сравнению с их растворимыми формами. Имобилизованные ферменты могут быть легко отделены от реакционной среды, что позволяет быстро остановить реакцию, повторно использовать катализатор, получить продукт, не содержащий фермент, организовать непрерывный процесс в проточных реакторах и регулировать скорость катализируемой реакции (или выход продукта) за счет изменения скорости потока субстрата. Из-за химического или физического взаимодействия фермента с носителем ключевые свойства фермента, например, оптимальные значения pH и температуры, могут быть изменены. В некоторых случаях иммобилизация ферментов может сочетаться с их очисткой и таким образом компенсировать стоимость процесса иммобилизации. Иммобилизация может увеличить жесткость молекулы фермента и повысить его стабильность.

Механизмы иммобилизации цистеиновых протеаз до сих пор полностью не изучены. Сведения о механизмах связывания этих ферментов с хитозаном могут быть очень полезными инструментами для дальнейшего улучшения их свойств и последующего использования.

Целью данной работы было выявление механизмов адсорбции бромелина, папаина и фицина на хитозане: вычисление значений сродства этих ферментов по отношению к носителю и определение количества и длины связей и типов взаимодействий между молекулами протеаз и хитозаном на каждой стадии сорбции белковой глобулы.

Несмотря на то, что бромелин, папаин и фицин являются высокомолекулярными белками (query coverage 99 %, percent identity ~ 45 %), механизмы их иммобилизации на хитозане, по-видимому, существенно отличаются. В частности, у папаина в первых пяти связываниях с хитозаном принимают участие 12 аминокислотных остатков, входящих в состав α -спиралей, и 7 аминокислотных остатков, входящих в состав β -слоев. У бромелина это соотношение составляет $6\alpha/7\beta$, а у фицина – $8\alpha/5\beta$. Процент сохранения активности при иммобилизации на средне- и высокомолекулярном хитозанах у папаина ниже (34 и 28 % соответственно), чем фицина (54 и 70 %) и бромелина (49 и 65 %). Однако при этом время полужизни биокатализаторов повышается следующим образом: для папаина – в 7,3 и 7,6 раза, для фицина – в 6,5 и 6,0 раз, для бромелина – в 5,9 и 5,8 раза соответственно. По-видимому, наибольший вклад в повышение стабильности молекулы цистеиновой протеазы и сопутствующее ей снижение каталитической активности вносит не столько количество связей и взаимодействий с матрицей хитозана, сколько количество связей и взаимодействий, которые образованы с помощью аминокислотных остатков в составе α -спиралей.

Важными характеристиками энзимов являются время полужизни, оптимальные диапазоны значений температуры и pH среды, константа Михаэлиса и максимальная скорость реакции. Иммобилизация цистеиновых протеаз на хитозане не приводит к сдвигу оптимального диапазона значений pH и температуры, снижает значения максимальной скорости реакции, но существенно увеличивает стабильность биокатализаторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке в форме гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – докторов наук МД-1982.2020.4. Соглашение 075-15-2020-325.

ОЦЕНКА СКОРОСТИ ДЕГРАДАЦИИ КАРКАСНЫХ ГУБОК НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА *IN SITU* ПО ДАННЫМ АКУСТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ

Evaluation of the Degradation Rate for Chitosan Sponges *in situ* by Mean of Acoustic Microscopy

Храмцова Е.А.¹, Куликова О.Р.¹, Ушмаров Д.И.³, Антипова К.Г.², Луканина К.И.², Гуменюк С.Е., Левин В.М.¹, Григорьев Т.Е.²

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, alyonushk@gmail.com

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва, РФ

³ Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар, РФ

Наравне с активным развитием самой области регенеративной медицины, растет потребность в количественных методах визуализации и анализа упругих свойств матрикса неинвазивными и неразрушающими методами в результате естественной деградации внутри организма. Имеющиеся в настоящее время в распоряжении исследователей методы визуализации и оценки объемной микроструктуры - это электронная и оптическая микроскопия с различными видами гистологической подготовки объектов, требуют нарушения целостности матриксов. Основной проблемой этих методик является их непосредственное воздействие на объект (обработка с помощью химических фиксаторов, изготовление срезов, окрашивание и т.д.), в результате чего невозможно получение адекватной информации о реальном состоянии исследуемого образца. С учетом этого для анализа микроструктуры матриксов *in situ* был предложен метод акустической микроскопии [1].

Для адекватного запуска процесса регенерации, функциональное раневое покрытие должно изолировать место повреждения, обладать антибактериальными свойствами, с одной стороны обладать механической прочностью, но с другой – не травмировать окружающие ткани, по возможности сорбировать накапливающийся экссудат, нести на себе лекарственные препараты и т.д.

В рамках данной работы были исследованы губчатые материалы на основе хитозана. С целью стандартизации условий имплантации, хитозановые импланты устанавливались в предварительно подготовленные соединительнотканые капсулы [2]. В дальнейшем эксплантаты исследовались с применением оптической и акустической микроскопии, гистологических методик.

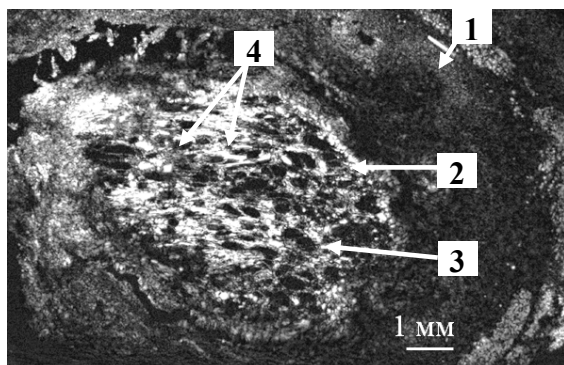


Рисунок 1. Ультразвуковое изображение гнойной раны, заполненной губкой из «твердого» направленного 3%-ого хитозана, (50 МГц, 30 гр, разрешение 15мкм, толщина акустического среза 38 мкм): 1 – соединительнотканная капсула; 2 – дебрис; 3 – губчатый матрикс; 4 – поры в матриксе

На рисунке 1 показано ультразвуковое изображение раны, где градации серого отражают вариации локальных упругих свойств матрикса и степень его сохранности.

В результате настоящего исследования показана эффективности акустической микроскопии в качестве неинвазивного, неразрушающего инструмента для визуализации результатов процесса деградации губчатых матриксов на основе хитозана в зависимости от их структуры и свойств.

Работа выполнена при частичной поддержке НИЦ «Курчатовский институт» (приказ №1058 от 02.07.2020).

1. Kim K., Wagner W.R. Non-invasive and Non-destructive Characterization of Tissue Engineered Constructs Using Ultrasound Imaging Technologies: A Review // *Annals of biomedical engineering*, 2016, vol. 44 (3), pp. 621-635. doi: 10.1007/s10439-015-1495-0

2. Гуменюк С.Е., Гайворонская Т.В., Гуменюк А.С. и др. Моделирование раневого процесса в экспериментальной хирургии // *Кубанский научный медицинский вестник*, 2019, т. 26, № 2. doi: 10.25207/1608-6228-2019-26-2-18-25

РОЛЬ НАЧАЛЬНЫХ ФАЗ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ В ПРОЦЕССЕ ФИБРИНОГЕНЕЗА The Hemocoagulation Initial Phases Role in the Process of Fibrinogenesis

Цибулина А.О., Демкин В.П., Удут В.В.

Томский государственный университет, г. Томск, РФ, *Aotsibulina@mail.ru*

На сегодня имеется достаточное количество данных, указывающих на то, что тромбгеморрагические осложнения являются ведущей причиной инвалидизации и смертности трудоспособного населения во всем мире. Несмотря на значительный объем проводимых в мире фундаментальных и прикладных исследований по данной тематике и на достигнутые результаты, эффективность и безопасность антитромботической профилактики и терапии далеки от совершенства и не всегда сопровождаются желаемым клиническим эффектом. Достижение их высокой эффективности во многом определяется уровнем современных представлений о патогенезе развития тромбофилий и реализованных тромбозов, возможностями своевременной их диагностики, а также знаниями фармакодинамики противотромботических препаратов.

Начальные фазы свертывания крови – это важное звено в каскаде биохимических реакций, поскольку они ведут к образованию фибрина. На фазе инициации процесса начинается зарождение нужного количества тромбина, который впоследствии начинает генерироваться вследствие положительной обратной связи. Таким образом, на фазе инициации задаются определенные условия, которые формируют уровень гемостатического потенциала.

Существующие локальные и глобальные методы лабораторной диагностики системы гемостаза имеют ряд существенных недостатков: низкая чувствительность и отсутствие стандартизации, длительность пробоподготовки, проведение исследований на модели цитратной плазмы, либо стабилизированной крови. Кроме того, неструктурированность, неточность и фрагментированность результатов анализа, полученных локальными и глобальными методами, практически исключает целостное представление о состоянии системы гемостаза.

Напротив, тест низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ) дает информацию обо всех фазах гемokoагуляции нативной крови: от инициации фибринообразования до формирования фибринового сгустка и его возможного лизиса, что обеспечивает его широкое применение [1]. НПТЭГ используется для исследования процесса свертывания крови по изменению вязкоупругих характеристик вследствие механического воздействия на нее и анализа возникающих сдвиговых деформаций, получаемых с помощью ультразвуковых диагностических сканеров.

В проведении подобных исследований особую значимость приобретает привлечение знаний о физических свойствах крови, поскольку в процессе свертывания изменяется ее агрегатное состояние с существенными изменениями ее вязкоупругих свойств.

Метод НПТЭГ дает возможность оценить вязкоупругие характеристики крови в условиях периодических сдвиговых напряжений [2], что позволило построить физико-математическую модель изменения вязкоупругих свойств цельной крови на начальных фазах гемokoагуляции и проанализировать их роль в динамике основных компонентов каскада биохимических реакций.

В основу этой модели положены результаты биохимических реакций крови, данные теста низкочастотной пьезотромбоэластографии и результаты расчета амплитудно-фазовых характеристик иглы-резонатора пьезотромбоэластографа.

Применение нового подхода для выявления механизмов изменения вязкоупругих характеристик крови предоставило возможность контролировать гемостатический потенциал при помощи противотромботической терапии, предупреждая нарушения системы гемостаза и ускоряя естественные процессы регенерации.

1. Тютрин И.И., Удут В.В. Низкочастотная пьезотромбоэластография цельной крови: алгоритмы диагностики и коррекции гемостазиологических расстройств. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2016, 170 с.

2. Demkin V.P., Mel'nichuk S.V., Rudenko T.V. et al. Analysis of viscoelastic parameters of fluids by lowfrequency piezoelastography // Bulletin of experimental biology and medicine, 2020, vol. 168, no. 3. doi 10.1007/s10517-020-04721-z

**ОСТАНОВКИ ТЕРМОФИЛЬНОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ВЫЗЫВАЮТСЯ
СТАБИЛИЗАЦИЕЙ G4-СТРУКТУР ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИМИ ЛИГАНДАМИ**
**Stops of Thermophilic DNA Polymerase are caused by the Stabilization of G4 Structures by DNA-Binding
Ligands**

Чащина Г.В.^{1,2}, Калужный Д.Н.¹

¹ Институт молекулярной биологии им.Энгельгардта, г. Москва, РФ, *chashchina.g.v@gmail.com*

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
г. Долгопрудный, Московская обл., РФ

Промоторные последовательности многих генов, в том числе онкогенов, содержат последовательности, потенциально способные образовывать неканонические структуры ДНК – G-квадруплексы (G4). Воздействие на такие структуры позволяет избирательным образом регулировать экспрессию генов. В промоторе гена с-МYC имеются небольшие участки открытого хроматина, один из которых содержит GC-богатую последовательность, потенциально способную образовывать альтернативные структуры ДНК. G4-структуры являются потенциальными мишенями для противоопухолевой терапии. В настоящее время ведется поиск специфичных G4-лигандов, которые были бы способны индуцировать или стабилизировать G-квадруплексные структуры и тем самым подавлять транскрипцию онкогенов.

Один из методов для обнаружения G4-структур в геномной ДНК является метод остановок термостабильной ДНК-полимеразы, основанный на том, что участки ДНК, образующие стабильные вторичные структуры, представляют препятствия синтеза комплементарной цепи ДНК-полимеразами. Этот метод широко используется для тестирования малых молекул потенциальных G-квадруплексных лигандов [1].

В данной работе в качестве анализируемого участка ДНК мы использовали ПЦР-продукт, соответствующий участку промотора онкогена человека с-МYC. ПЦР-продукт длиной 401 п.н., содержит несколько перекрывающихся последовательностей, способных формировать стабильные G4-структуры (PQS) которые были выявлены методом полимеразных остановок в разных концентрациях ионов калия [2]. Длину продуктов удлинения праймера анализировали в денатурирующем ПААГ, сравнивая с нуклеотидной последовательностью, прочитанной с того же праймера. Удлинение праймера было проведено при добавлении известных квадруплексных лигандов PDS, TMRyP4, PhenDC и Braco19, а также при добавлении ионов калия. Соединения PDS, PhenDC и ионы калия вызвали специфичные к PQS остановки термостабильной ДНК-полимеразы, что может быть связано со стабилизацией G4-структур на матричной нити ДНК. Для соединений TMRyP4 и Braco19 остановки полимеразы не были обнаружены или были слабо выражены, что говорит об их низкой специфичности к G4-структурам.

Сродство исследуемых соединений к G4-структуре оценивали путем тушения флуоресцентной FAM-метки, прикрепленной к 5'- или 3'-концам короткого олигонуклеотида с последовательностью G4-структуры из промотора гена MYC. Для формирования G4-структуры проводили быстрый отжиг олигонуклеотида в 2-х условиях: в присутствии 100mM KCl или 20mM CsCl. В присутствии ионов калия формировался квадруплекс, в то время как ионы цезия ослабляли стабильность неканонической структуры ДНК. Для всех лигандов выявили предпочтительное связывание с 5'-тетрадой по сравнению с 3'-тетрадой G4-ДНК. Температурная зависимость тушения флуоресцентных меток на G4-структуре позволила охарактеризовать термодинамические параметры взаимодействия лигандов с ДНК.

Полученные результаты показывают возможность использования простого биохимического подхода для установления специфичности и аффинности соединений к G4-структурам ДНК на природных нуклеотидных последовательностях.

Работа поддержана грантом РФФ 20-14-00332.

1. Wu Guanhui, Han Haiyong. A DNA Polymerase Stop Assay for Characterization of G-Quadruplex Formation and Identification of G-Quadruplex-Interactive Compounds // *Methods Mol Biol.*, 2019, vol. 2035. doi: 10.1007/978-1-4939-9666-7_12

2. Chashchina G., Beniaminov A., Kaluzhny D. Stable G-Quadruplex Structures of Oncogene Promoters Induce Potassium-Dependent Stops of Thermostable DNA Polymerase // *Biochemistry (Moscow)*, 2019, vol. 84. doi: 10.1134/S0006297919050109

**ДИФФУЗИЯ КАТИОННОГО КРАСИТЕЛЯ В ГИДРОГЕЛЯХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА:
БИОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**
Diffusion Of Cation Dye In Hydrogels Of Various Composition: Bioelectrochemical Aspects

Черенков И.А., Игнатъева М.М., Майорова Л.А., Сергеев В.Г.
Удмуртский государственный университет, г. Ижевск, РФ, *ivch75@udsu.ru*

Катионные красители (КК) широко применяются для окраски клеток и тканей. При этом гистохимические основы такого окрашивания часто связаны с взаимодействием красителя с полианионными углеводными компонентами [1, 2]. Многие КК обладают выраженной электрохимической активностью и способны формировать на электроде хорошо воспроизводимые пики электроокисления и электровосстановления при невысоких значениях потенциалов [3, 4]. Возможно использование КК в качестве электроактивной метки для исследования гидрогелевых сред с определением качественных и количественных особенностей вольтамперных кривых циклической вольтамперометрии (ЦВА). Остается малоисследованным вопрос о влиянии состава гидрогеля на электрохимическое поведение красителя. Особенно интересны процессы, происходящие в комплексных средах, сходных с матриксом биологических тканей.

Целью настоящей работы стал анализ особенностей электрохимического поведения толуидинового синего в гидрогелевых средах различного состава и экспериментальное обоснование подходов биоэлектрохимического моделирования свойств межклеточного матрикса.

Для моделирования гидрогелевых матриксов использовали желатин, альгинат натрия и агарозу в виде 1,5–3 % (масс.) растворов на фосфатно-солевом буфере (ФСБ). В отдельной серии экспериментов в состав гелей вводили гепарин и бычий сывороточный альбумин (БСА). Гелеобразователь (1 мкл) наносили на рабочий электрод. Электроды с желатинсодержащими и агарозными гелями охлаждали, а альгинатные полимеризовали 2 М раствором CaCl_2 , избыток которого перед измерениями удаляли с электрода. В ячейку вносили 0,1 мМ раствор толуидинового синего (ТС) на ФСБ и проводили электрохимические измерения методом ЦВА.

Для всех исследованных гидрогелей типичными являются диффузионные ограничения электрохимических превращений ТС, которые при ЦВА выражаются в постепенном росте пиковых значений силы тока во времени. Наиболее высокий темп роста силы тока демонстрируют желатиновые и агарозные гели. В них диффузия ТС, по видимому, наиболее эффективна и определяется концентрацией гелеобразователя. Добавление БСА к раствору агарозы приводит к существенному ограничению диффузии ТС – рост пиковых значений силы тока замедляется, а абсолютные значения токов на момент завершения измерений (≈ 900 с.) оказались пятикратно ниже полученных в агарозном геле без добавления белка. Добавление трипсина в раствор ТС перед экспериментом приводило к повышению эффективности диффузии, что выражалось в росте пиковых токов электровосстановления. Сходные эффекты протеолиза показаны нами на других моделях [3, 4]. Заметные ограничения на диффузию ТС накладывает наличие в составе геля альгината – и абсолютные значения, и темпы прироста токов электровосстановления ТС во всех экспериментах были ниже, чем в гелях желатина соответствующей концентрации. Это согласуется с данными, полученными другими методами [1]. Очень существенно присутствие гепарина в составе геля. Имея максимальную плотность анионных групп среди гликозаминогликанов [5], гепарин существенно связывается с ТС [2], что находит отражение в данных наших электрохимических экспериментов – в желатиновых гелях с добавлением гепарина получены самые низкие значения токов, а состояние равновесия, характеризующееся отсутствием существенных приростов силы тока, формируется раньше, чем в желатиновом гидрогеле. Комбинация «белок-полианионный полисахарид» может рассматриваться как упрощенная модель межклеточного матрикса.

Таким образом, исследования электрохимического поведения катионных красителей в гидрогелевых средах различного состава позволяют количественно оценить диффузионные свойства гидрогеля и содержание в нем анионных групп. Комбинируя в составе гидрогелеобразователя различные компоненты, можно смоделировать комплекс физико-химических факторов межклеточного матрикса для биоэлектрохимических исследований биологических тканей и тканеинженерных конструкций.

1. Vleugels L. F.W., Ricois S., Voets I.K., Tuinier R. Reversal of metachromasy revisited; displacement of Toluidine-blue from alginate by surfactants // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, 2017, vol. 529, pp. 454-461. doi: 10.1016/j.colsurfa.2017.06.027

2. D'Ilario L., Francolini I., Martinelli A., Piozzi A. Insight into the Heparin-Toluidine Blue (C.I. Basic Blue 17) interaction // *Dye. Pigment.*, 2009, vol. 80, no. 3, pp. 343-348. doi: 10.1016/j.dyepig.2008.07.015

3. Черенков И.А. Раевских К.С., Сергеев В.Г., Кривилев М.Д. Моделирование протеазной активности с использованием электрохимического интерфейса // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2018, т. 3, № 2, с. 422-426.

4. Черенков И.А., Березина Л.С., Кривилев М.Д., Сергеев В.Г. Диффузия толуидинового синего в альгинат-желатиновом гидрогеле при воздействии пепсина // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2020, т. 5, № 3, с. 481-485.

5. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М.: Медицина, 1981, 312 с.

**ОБРАЗОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕГРУППИРОВКИ АМАДОРИ В ПРОЦЕССАХ
КОНДЕНСАЦИИ АДЕНИНА С D-МАННОЗОЙ И 6-ДЕЗОКСИ-L-МАННОЗОЙ**
Amadori Rearrangement Products Formation in Adenine – D-Mannose and 6-Deoxy-L-Mannose Condensation

Черепанов И.С.

Удмуртский государственный университет, г. Ижевск, РФ, *cherchem@mail.ru*

Производные аденина являются важными биологически активными веществами, в частности являются природными и синтетическими цитокинами. Интерес к последним обусловлен возможностью модифицирования их структуры введением заместителей различной природы в N⁶-положения, что позволяет в определенной степени регулировать биологическую активность. Гликозилирование аденина по N⁶-реакционному центру позволяет получить соответствующие аминоконъюгаты, при этом углеводный фрагмент по данным авторов [1] может входить в структуру в виде гликозидного цикла, присутствовать в ациклической форме основания Шиффа, либо кето-форме, образующейся в результате перегруппировки Амадори. Образование последних, по нашему мнению, оказывает существенное влияние на биоактивность синтезируемых препаратов, в связи с чем в настоящей работе нами изучены процессы аминоконъюгации углеводов конденсаций в системах аденин – D-манноза (Man) и аденин – 6-дезоксид-L-манноза (L-рамноза, Rha).

Эксперимент: 0,02 г аденина и 0,02 г углевода растворяли в 5 мл дистиллированной воды и полученные растворы медленно упаривали на плитке досуха, твердые продукты промывали последовательно холодной водой, этанолом и высушивали в эксикаторе. Для идентификации и изучения структурных особенностей синтезированных аминоконъюгатов снимали ИК-Фурье спектры твердых продуктов на ИК-Фурье спектрометре ФСМ-2201 в таблетках KBr в интервале волновых чисел 4000-400 см⁻¹ с разрешением по волновому числу 4 см⁻¹, полученные спектры обрабатывали в программе FSpec.

На рисунке 1А представлены фрагменты ИК-Фурье спектров выделенных продуктов в аномерной области. В спектре продукта на основе D-маннозы четко проявляются три полосы 865, 820 и 778 см⁻¹, не фиксирующиеся в спектре Rha-продукта. Данные сигналы известны в литературе как полосы типа I, II и III, относимые к колебаниям цикла + ν^{as}_{COC} (type I), деформационным колебаниям связей C-H фрагментов (type II) и пульсирующим колебаниям цикла (type III), характерные для дезоксиаминокетоз в пиранозной форме [2].

Известно, что первоначально образующаяся ациклическая 1-дезоксидаминокетоза переходит в наиболее устойчивую форму продукта перегруппировки Амадори – пиранозный цикл [2], образование которого для рамнозы, являющейся 6-дезоксимонасахаридом, затруднительно (Рис, позиция В), при этом доля фуранозной и ациклической форм незначительна. Таким образом, в процессах аминоконъюгации углеводов конденсаций после образования маннозиладенинов перегруппировка Амадори протекает в различной степени в зависимости от строения углеводного фрагмента. Последнее оказывает влияние на выход аминоконъюгатов и, вероятно, на их биоактивность за счет присутствия следов продуктов реакции Майяра [3] в случае системы аденин – D-манноза.

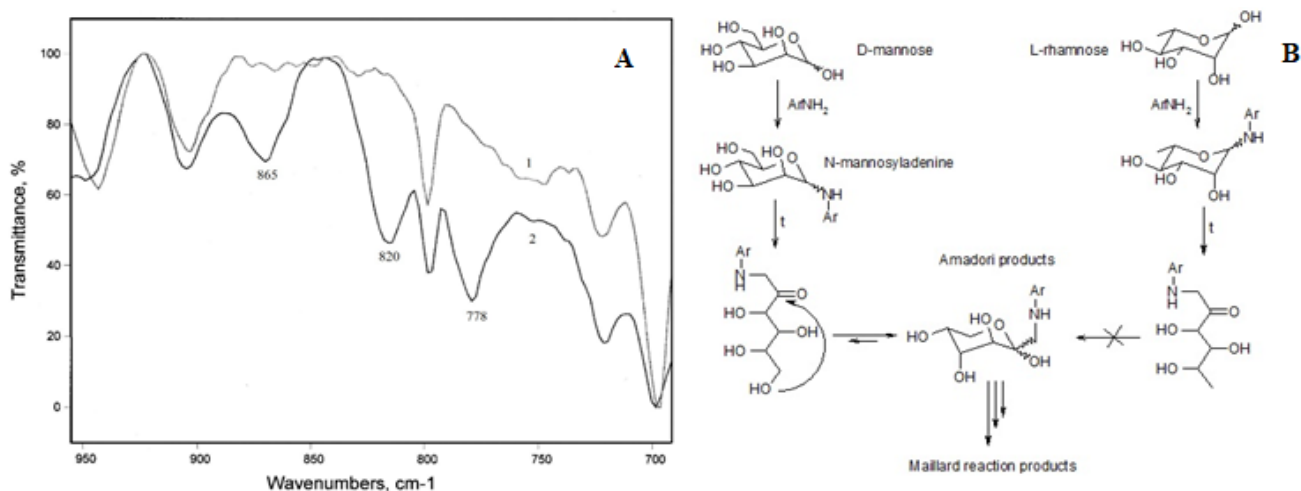


Рисунок 1. Фрагменты ИК-Фурье спектров рамнозиладенина (1) и маннозиладенина (2) в аномерной области (А) и схема образования продуктов перегруппировки Амадори (В)

1. Nashalian O., Yaylayan V. Reactivity of nitrogen atoms in adenine and (Ade)₂Cu complexes towards ribose and 2-furanmethanol: formation of adenosine and kinetin // Food Chemistry, 2017, vol. 215, pp. 463-469. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.012

2. Tamic L., Hartman K. The infrared spectra and structure of the Amadori product formed from glucose and glycine // Applied Spectroscopy, 1985, vol. 39, no. 4, pp. 591-594.

3. Cherepanov I.S., Kryukova P.S. Formation of humic substances in the reaction of D-glucose with p-toluidine in anhydrous ethanol // Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 188-195. doi: 10.21285/2227-2925-2020-10-2-188-195

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ И СОСТАВОМ В ЛИПИДАХ АЛОЭ ДРЕВОВИДНОГО

Interrelation Between the Physicochemical Properties and Composition in Lipids of *Aloe Arborescens* Mill

Шишкина Л.Н., Смирнова А.Н., Мазалецкая Л.И., Дубовик А.С., Швыдкий В.О.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ, shishkina@sky.chph.ras.ru

Листья и сок алоэ достаточно широко используются на практике как фармакологические лекарственные средства, однако механизм проявления ими биологической активности является предметом исследований. Предполагается, что разнообразие их фармакологических свойств обусловлено наличием биологически активных веществ (БАВ), обладающих антиоксидантными свойствами [1, 2]. Любые БАВ при попадании в организм должны взаимодействовать с мембранами, одним из основных компонентов которых являются фосфолипиды (ФЛ). Кроме того, сами растительные объекты также содержат ФЛ, активно участвующие в окислительных процессах, роль которых в регуляции клеточного метаболизма в настоящее время общепризнана. Однако, как показано на примере флавоноидов, БАВ способны образовывать комплексы с ФЛ, что существенно снижает их ингибирующую активность [3,4]. Это обуславливает необходимость изучения состава ФЛ самого растительного сырья, его ингибирующей активности способности липидов *Aloe* к мицеллообразованию в полярной среде, поскольку эти факторы влияют на реакционную способность фенольных антиоксидантов [5].

Объектами исследования являлись липиды, выделенные из листьев и сока *Aloe arborescence*, срезаемых с срединных частей растений 2-х летнего возраста и предварительно перед выделением липидов, подвергнутых биостимуляции. Липиды выделяли, используя общепринятую методику Фолча в модификации Кейтса. Качественный состав ФЛ анализировали методом ТСХ. Количественное соотношение фракций ФЛ определяли спектрофотометрически по образованию фосфорномолибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты ($\lambda=815$ нм, спектрофотометр ПЭ-5400ВИ, Россия). Содержание стероидов анализировали спектрофотометрически ($\lambda=625$ нм, спектрофотометр ПЭ-5400ВМ, Россия). Антиокислительную активность липидов из листьев Алоэ определяли на модели низкотемпературного автоокисления метилолеата в тонком слое. Для выявления наличия БАВ и их природы в хлороформных растворах липидов из листьев и сока Алоэ использовали УФ-спектрометрию (Shimadzu UV-1700 Pharma Spec, Япония) и математический анализ УФ-спектров с помощью метода Гаусса. Способность липидов из листьев и сока образовывать мицеллы в дистиллированной воде и их электрохимический потенциал определяли методом динамического рассеяния света, используя ZetaSizer Nano ZS analyzer (Malvern Instruments, Great Britain).

Совокупность полученных данных и анализ литературы позволяют заключить, что выявленные достоверные различия физико-химических свойств липидов, выделенных из листьев и сока Алоэ древовидного, обусловлены различиями в количественном соотношении состава их липидов и природы БАВ, извлекаемых с липидами в процессе их выделения.

1. Lucini L., Pellizzoni M., Pellegrino F. et al. Phytochemical constituents and in vitro radical scavenging activity of different Aloe species // Food Chem., 2015, vol. 170, P. 501-507.

2. Сажина Н.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В., Пальмина Н.П. Ингибирование окисления липосом фосфатидилхолина фенольными соединениями экстрактов *Aloe: A. arborescens, A. pillansii* и *A. squarrosa* // Химия раст. сырья, 2019. № 2, С. 83-90.

3. Xu K., Liu B., Ma J. et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of luteolin – phospholipid complex // Molecules, 2009, vol., 14, pp. 3486-3493.

4. Mazaletskaya L.I., Sheludchenko N.I., Shishkina L.N. Lecithin influence on the effectiveness of the antioxidant effect of flavonoids and α -tocopherol // Applied Biochem. & Microbiol., 2010, vol. 46, no. 2, pp. 135-139.

5. Shishkina L.N., Mazaletskaya L.I., Marakulina K.M. et al. Effect of complexation with phospholipids and polarity of medium on the reactivity of phenolic antioxidants // Chemistry and Technology of Plant Substance, AAP: Toronto, 2017, pp. 93-110.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОНОРОВ ОКСИДА АЗОТА НА НЕФЕРМЕНТАТИВНОЕ ГЛИКИРОВАНИЕ БИОМОЛЕКУЛ**Influence of Various Nitric Oxide Donors on Non-Enzymatic Glycation of Biomolecules****Шумаев К.Б.^{1,2}, Космачевская О.В.¹, Топунов А.Ф.¹, Насыбуллина Э.И.¹, Мартусевич А.К.⁴, Рууге Э.К.^{2,3}**¹Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, РФ, tomorov@mail.ru²Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава России, г. Москва, РФ³Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, РФ⁴Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, г. Нижний Новгород, РФ

Известно, что неферментативное гликирование биомолекул приводит к их модификации и инактивации [1-6]. У человека эти процессы лежат в основе карбонильного стресса и наблюдается в условиях диабетической гипергликемии. Ранее было показано, что в ходе неферментативного гликирования в реакциях аминокислот или белков с альфа-кетоальдегидом метилглиоксальем образуются различные свободные радикалы [1-3]. Считается также, что дисфункция эндотелия при карбонильном стрессе связана с изменением уровня оксида азота (NO). В литературе также имеются данные о взаимодействии NO с продуктами неферментативного гликирования [2,4,5]. В данной работе исследовали влияние синтетического (PAPA/NONO) и физиологических (S-нитрозотиолы) доноров NO на формирование органических свободных радикалов при неферментативном гликировании.

Для моделирования неферментативного гликирования при карбонильном стрессе использовали реакцию метилглиоксаля с L-лизиним и N-ацетиллизиним. Последний использовался как аналог остатка лизина в белках. При продувке реакционной среды азотом с помощью спектроскопии ЭПР обнаружено образование анион-радикала метилглиоксаля и катион-радикала Шиффова основания (диалкилимина). Установлено, что продукцию этих свободных радикалов существенно стимулирует PAPA/NONO и такие физиологические доноры оксида азота как S-нитрозосцистеин и S-нитрозоглутатион. Вместе с тем, другие метаболиты NO – нитроксил (HNO) и содержащие глутатион динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) снижали уровень свободнорадикальных интермедиатов неферментативного гликирования. Ранее нами обнаружено, что тиол-содержащие ДНКЖ могут модифицироваться метилглиоксальем [4].

Таким образом, свободный оксид азота и его метаболиты могут оказывать разнонаправленное действие на образование органических свободных радикалов в реакции метилглиоксаля с аминокислотами. Эти данные согласуются с тем, что NO обладает дихотомическим действием при окислительном и карбонильном стрессе. Такой «Янус эффект» оксида азота, вероятно, определяется различными редокс-свойствами физиологических производных NO и может играть важную роль при развитии патологических процессов, связанных с диабетом.

Работа была выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 19-015-00444.

1. Lee C., Yim M.B., P. Chock B. et al. Oxidation-Reduction Properties of Methylglyoxal-modified Protein in Relation to Free Radical Generation // J. Biol. Chem., 1998, vol. 273, no. 39, pp. 25272-25278. doi: 10.1074/jbc.273.39.25272

2. Asahi K., Ichimori K., Nakazawa H. et al. Nitric oxide inhibits the formation of advanced glycation end products // Kidney Int., 2000, vol. 58, no. 4, pp. 1780-1787. doi: 10.1111/j.1523-1755.2000.00340.x

3. Шумаев К.Б., Губкина С.А., Кумскова Е.М. и др. Механизм образования супероксидного радикала при взаимодействии L-лизина с дикарбонильными соединениями // Биохимия, 2009, т. 74, № 4, с. 568-574.

4. Шумаев К.Б., Губкина С.А., Ванин А.Ф. и др. Образование нового типа динитрозильных комплексов железа, связанных с цистеином, модифицированным метилглиоксальем // Биофизика, 2013, т. 58, № 2, с. 239-245.

5. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Topunov A.F. Formation of Nitri- and Nitrosylhemoglobin in systems modeling the Maillard reaction // Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, 2014, vol. 52, no. 1, pp. 161-168. doi: 10.1515/cclm-2012-0792

6. Ланкин В.З., Шумаев К.Б., Тихазе А.К., Курганов Б.И. Влияние дикарбониллов на кинетические характеристики глутатионпероксидазы // Доклады академии наук, 2017, т. 475, № 6, с. 706-709. doi: 10.7868/S0869565217240227

**ПЕРВИЧНЫЕ И РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГОРМОНОГЕНЕЗА В ЩИТОВИДНОЙ
ЖЕЛЕЗЕ НА СДВИГИ В БАЛАНСЕ ДЕЙТЕРИЯ И ПРОТИЯ В ОРГАНИЗМЕ**
**Primary Affection and Reactive Changes in Thyroid Hormone Production Induced by Shifts in Deuterium and
Protium Balance in the Organism**

Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П., Яглов В.В.
НИИ морфологии человека, г. Москва, РФ, *yaglova@mail.ru*

Роль стабильных изотопов биогенных атомов в регуляции метаболических процессов и функционировании клеток – активно развивающаяся область биологии. Дейтерий относится к одним из наиболее распространенных в организме стабильных изотопов [1]. Его биологическая роль мало изучена. Щитовидная железа является органом, регулирующим активность катаболических процессов, но сама при этом не зависит от изменения параметров водного обмена и обмена углеводов. В наших предыдущих исследованиях мы установили, что щитовидная железа чувствительна к изменению содержания стабильных изотопов дейтерия [2]. Цель исследования – выявить характер первичных и реактивных изменений гормоногенеза в щитовидной железе на сдвиги в балансе дейтерия и протия в организме. Эксперимент выполнен на 2х группах самцов крыс Вистар, которые потребляли в течение 3х сут воду с [D]=500000 и 10 ppm. Контрольная группа потребляла воду с нормальным содержанием дейтерия 146 ppm. В сыворотке крови крыс определяли концентрации общего и свободного тироксина (Т4 и СТ4), общего и свободного трийодтиронина (Т3 и сТ3), ТТГ. Проводили учет выпитой воды. Объем суточного потребления воды во всех группах превышал объем циркулирующей плазмы, что обеспечивало изменение содержания дейтерия во внутренней среде организма.

Через сутки у крыс, потреблявших воду с повышенным содержанием дейтерия, выявлены первичные изменения, заключающиеся в увеличении продукции Т4 и снижении концентрации сТ3. Уровень ТТГ был ниже контрольных значений. У крыс, потреблявших воду с низким содержанием дейтерия, выявлены повышение уровня Т4 и снижение ТТГ.

Через трое суток у крыс, потреблявших воду с повышенным содержанием дейтерия, отмечено увеличение содержания общего и свободного Т4, общего и свободного Т3. У крыс, потреблявших воду с пониженным содержанием дейтерия, выявлено развитие реактивных изменений, заключающихся в снижении продукции основных гормонов Т4 и Т3 до контрольных значений. Уровень сТ3 как и в предыдущей группе был выше контрольных значений. Концентрация ТТГ в сыворотке крови повысилась и незначительно превысила контрольные значения.

Таким образом, и при повышении, и при понижении содержания дейтерия первичной реакцией щитовидной железы является усиление ее функциональной активности. На третьи сутки снижения содержания дейтерия в щитовидной железе развиваются реактивные изменения, направленные на восстановление эутиреоза, в то время как при повышении содержания дейтерия реактивные изменения в данные сроки не развиваются, напротив, гиперфункция усиливается, то есть процессы синтеза и протеолиза тироглобулина активируются, а не тормозятся, что не подтверждает первичные изотопные эффекты дейтерия на течение биохимических реакций в условиях *in vivo* в данном случае. Изменения уровня ТТГ гипофиза свидетельствуют о пассивной роли гипофиза в регуляции секреторных процессов, измененных сдвигами в балансе дейтерия и протия в организме.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00236 А.

1. Somlyai G., Javaheri B., Davari H. et al. Pre-Clinical and Clinical Data Confirm the Anticancer Effect of Deuterium Depletion // *Biomacromol. J.*, 2016, vol. 2, no. 1, pp. 1-7.
2. Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П., Яглов В.В. Реакция гипофизарно-тиреоидной оси на кратковременное изменение содержания дейтерия в организме // *Бюлл. экспер. биол.*, 2021, т. 171, № 2, с. 232-234.

НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА, ПОКРЫТЫЕ TEOS И APTES, ДЛЯ МАГНИТНОЙ СЕПАРАЦИИ КЛЕТОК

Iron Oxide Nanoparticles Coated with TEOS and APTES for Magnetic Cell Separation

Ярославцев Р.Н.^{1,2}, Тюменцева А.В.¹, Герасимова Ю.В.², Столяр С.В.^{1,2}

¹Красноярский научный центр СО РАН, г. Красноярск, РФ

²Институт физики им. Л.В. Киренского ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, yar-man@bk.ru

Разработка эффективных методов сепарации отдельных клеток и молекул является на сегодняшний день важной перспективной задачей лабораторной диагностики. Это позволяет селективно исследовать отдельные компоненты биологических образцов сложного состава, снижая неспецифические сигналы от примесей и тем самым значительно повышая чувствительность и специфичность анализа. Использование магнитных наночастиц для сепарации биологических объектов (молекул, клеток) получило большое распространение благодаря простоте применения, относительной безопасности в сочетании с возможностью получить чистый продукт, возможности автоматизации процесса.

Цель настоящего исследования - синтез и исследование магнитных нанокмозитов на основе оксида железа покрытых силикатной оболочкой для сепарации клеток.

Магнитные частицы были получены методом соосаждения из раствора солей FeCl_3 и FeCl_2 в молярном соотношении 2:1 при комнатной температуре. Навески растворяли в дистиллированной воде и при перемешивании вводили в раствор NH_4OH (25%) до достижения $\text{pH} = 10$. Продолжали перемешивание в течение 30 минут. По окончании реакции магнитные наночастицы собирали при помощи магнита и отмывали несколько раз в дистиллированной воде до установления $\text{pH} = 7,0$. Поверхность частиц модифицировали оксидом кремния с использованием тетраэтоксисилана (TEOS) и 3-аминопропилтриэтоксисилана (APTES).

Полученные наночастицы были исследованы методами электронной просвечивающей микроскопии, ИК-спектроскопии, мессбауэровской спектроскопии, магнитометрии. Исследования выполнялись на оборудовании Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

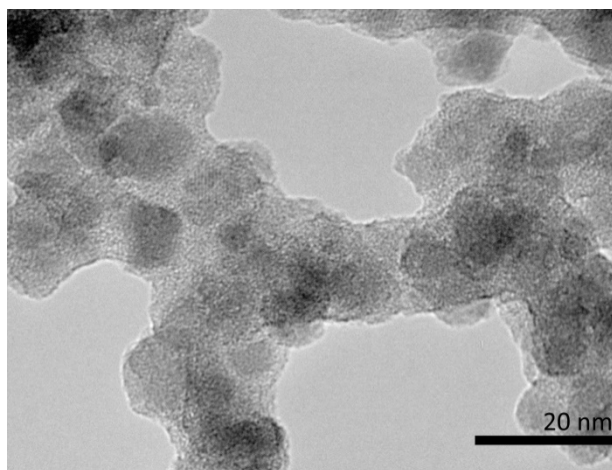


Рисунок 1. Изображение, полученное с помощью просвечивающего электронного микроскопа наночастиц $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$

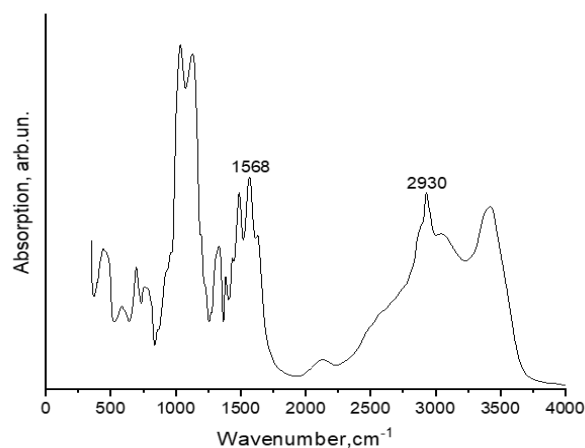


Рисунок 2. ИК-Фурье спектр наночастиц $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ при комнатной температуре

Электронно-микроскопические исследования показали, что наночастицы оксида железа имеют кубическую форму и размер ~ 10 нм. Функциональный состав наночастиц, покрытых TEOS и APTEs был изучен при помощи метода ИК-спектроскопии. Пик 2930 cm^{-1} относится к ν_{as} колебаниям CH_2 . Образованию связи -C-NH_2 (алифатического первичного амина) соответствует интенсивный пик 3400 cm^{-1} , в эту область попадают валентные колебания H_2O свободные и связанные водородными связями. В спектре появляется полоса 1568 cm^{-1} , соответствующая N-H связи в первичных аминах. Также анализ ИК спектра показал наличие связи Fe-O пик 587 cm^{-1} и Si-O групп 1037 cm^{-1} . Таким образом, данные ИК-Фурье спектроскопии подтверждают, что наночастицы с силикатной оболочкой содержат на поверхности NH_2 -группы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 20-42-242902.

СЕКЦИЯ 4. БИОФИЗИЧЕСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЕЦИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА АКТИВНОСТЬ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У КРЫС

Effect of Low-Intensity Electromagnetic Radiation of the Decimeter Range on the Activity of Ceruloplasmin in Blood Serum in Rats

Аббасова М.Т.

Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева НАН Азербайджана, г. Баку, Азербайджан,
biokimya_65@mail.ru

Электромагнитное загрязнение окружающей среды представляется одним из наименее изученных на сегодня факторов. Известно, что электромагнитное излучение способно ускорять свободнорадикальное перекисное окисление липидов [1]. Это было показано и нами в предыдущих исследованиях [2]. Свободные радикалы обладают высоким окислительным потенциалом, и вызывают повреждения биологических макромолекул (нуклеиновые кислоты, белки т.д.). В литературе также показано что, воздействие электромагнитного излучения уменьшает содержание в сыворотке крови таких элементов, как магний, железо и медь [3]. Но защиту клеток от повреждающего действия свободных радикалов обеспечивают антиоксидантные системы и некоторые существующие в природе железосодержащие соединения, такие как трансферин, ферритин, лактоферрин, церулоплазмин и др. Исследование регуляции этих плазматических белков является чрезвычайно важным для понимания работы в целом защитной системы против свободных радикалов и перекисидации жиров. Из них церулоплазмин играет важную роль в метаболизме меди и железа, а также в механизмах прооксидантных/антиоксидантных реакций. Основная физиологическая роль церулоплазмина - участие в окислительно-восстановительных реакциях. В этих реакциях церулоплазмин может действовать как прооксидант, выступая катализатором окисления липопротеидов низкой плотности в присутствии супероксид радикала. Церулоплазмин обладает также антиоксидантными свойствами, поскольку способен разрушать супероксидные радикалы кислорода, предотвращая таким образом, активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ). Нарушением функции церулоплазмина необходимо при выявлении различных патологий и действии неблагоприятных факторов среды, как для диагностических целей, так и определения областей применения его как препарата. Таким образом, основные функции церулоплазмина в организме человека: повышение стабильности клеточных мембран; участие в иммунологических реакциях (в формировании защитных сил организма), ионном обмене; оказание антиоксидантного (препятствующего окислению липидов клеточных мембран) действия; стимулирование гемопоэза (кровотворения).

Целью наших экспериментальных исследований было изучение влияния неионизирующим электромагнитным излучением дециметрового диапазона на уровень активности церулоплазмина в крови.

Исследования проводились на белых крысах линии Вистар массой 250-300 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были разделены на экспериментальную и контрольную группы, состоящих из 8 крыс. Экспериментальная группа животных облучалась ЭМИ 460 МГц на аппарате «Волна-2» (Россия) в металлической цилиндрической камере с диаметром и высотой 15 см. Облучение проводилось ежедневно в течение 20 мин до 4 недель при плотности прямого потока мощности 20 мкВт/см². Содержание церулоплазмина определяли по методу Ревина [4]. Принцип метода основан на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмина.

Полученные данные показывают, что у опытных крыс в плазме крови активность церулоплазмина значительно возрастает в течение 7 дней облучения по сравнению с контролем (1,7 раз). Однако на 14 и 21 день активность церулоплазмина снижается. На 28-е сутки наблюдается относительное повышение. При этом увеличение количества железа по сравнению с контролем наблюдается в течение 28 дней. Больше это проявляется на 7-й день. Однако в другие дни это увеличение значительно снижается по сравнению с контролем. Количество малондальдегида, конечного продукта перекисного окисления липидов, на 21 и 28 день выше, чем в контроле.

Снижение содержания церулоплазмина в сыворотке крови является, возможно, ответной реакцией на уменьшение уровня свободнорадикального окисления при адаптации организма к электромагнитному излучению.

Таким образом, в условиях интенсивной генерации свободных радикалов предварительное введение церулоплазмина не достаточно эффективно. Более того, существует опасность, что церулоплазмин, как металл-связывающий белок, при окислительном стрессе, снижении pH крови и окислительной деструкции может быть источником активных форм металлов переменной валентности, провоцирующих свободнорадикальное окисление.

1. Александрова Э.Б. Динамика антиоксидантной системы организма под действием сверхвысокочастотного излучения. // Вестник Челябинского государственного университета, 2014, № 13, с. 324.
2. Abbasova M.T., Gadzhiev A.M. Study of changes of protein carbonyl content and lipid peroxidation product in blood of rats exposed to desimeter electromagnetic radiation (460 MHz) // Journal of Medical and Biological sciences, 2014, vol. 1, pp. 89-92.
3. Burchard J.F., Nguyen D.H., Black E. Macro- and utrace element concentrations blood plazma and cerebrospinal fluid of dairy cows exposed to electric and agnetic fields // Bioelectromagnetics, 1999, vol. 20, pp. 358-364.
4. Камышников. Методы клинических лабораторных исследований. Минск, 2016, 716 с.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ВОДЫ ОГУРЦА ПРИ СТРЕССЕ ЗАМКНУТОГО ОБЪЕМА

Functional Status of Cucumber Intracellular Water during Closed-Loop Stress

Апашева Л.М.¹, Будник М.И.¹, Лобанов А.В.¹, Овчаренко Е.Н.¹, Розанцев М.В.², Турбин В.В.²,
Сергеев А.И.¹, Стребков Д.С.³

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва, РФ, ziraf@mail.ru

² НПО «Экопероксид водорода», Московская область, РФ, info@ecoperoksid.ru

³ Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ, г. Москва, РФ, nauka-ds@mail.ru

Пероксид водорода во многом определяет физиологические и биохимические процессы в жизнедеятельности растений [1]. Нами ранее показана его значимость как регулятора роста растений в стрессовых ситуациях (RU 2264070, RU 2423813, RU 2445759).

Существует несколько методов контактного и бесконтактного способов активирования воды для получения растворов пероксида водорода (далее – ПВ). В работе использовали нестабилизированные различными добавками растворы ПВ, которые получали бесконтактной активацией воды [2]. Антистрессовые действия получаемого ПВ изучали на растениях огурца (сорт Конкурент), которые подращивали в изолированных замкнутых объемах на обедненной среде. Семена проращивали в дистиллированной воде, наклюнувшиеся семена помещали в культуральные пластиковые сосуды на песок, однократно увлажненный в контроле – водой, в опыте – растворами ПВ. Сосуды герметично закрывали и выставляли в люминостат (ритм свет: темнота = 12:12 час). Наблюдение за ростом растений вели дистанционно. Для анализов пробы отбирали из дублирующих сосудов. Рост опытных растений шел с опережением контрольных, о чем судили по появлению семядольного листа, высоте растений, наличию тургора. К 35-м суткам в опыте определено 25% живых растений, в контроле живых не отмечено. Оптимальной концентрацией раствора ПВ была $5 \cdot 10^{-5}$ М.

Объяснением антистрессового действия ПВ может быть наблюдаемые структурные изменения внутриклеточной воды в проростках огурца. Проведены эксперименты с использованием метода протонной спин-спиновой релаксации ПМР. Процессы спин-спиновой релаксации описываются временем релаксации T_2 . Для фракции свободной воды время релаксации – 2 сек, для воды, связанной с клеточными структурами – десятки мсек. Для опытов отбирали проростки огурца, подращенные в контроле на воде, в опыте на растворах ПВ. В опытных образцах определено увеличение вклада в кривую поперечной намагниченности быстрой компоненты T_2 , что соответствует более связанному состоянию протонов воды, вклад связанной воды достигает 20–40%, в контроле – это 11–14% от общего количества протонов воды в клетках.

Таким образом, получаемый бесконтактным способом пероксид водорода способствует выживанию растений в стрессовых условиях замкнутого объема, повышая физиологический статус растения, что определяется в значительной мере увеличением количества связанной внутриклеточной воды.

1. Комиссаров Г.Г. Фотосинтез: физико-химический подход. М.: Едиториал УРСС, 2003, 223 с.

2. Стребков Д.С., Будник М.И., Апашева Л.М. и др. Способ и устройство получения экологически чистого раствора пероксида водорода из воды. Заявка на изобретение № РСТ/RU2020/000364.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОФИЗИКА – ВОЗМОЖНЫЕ ГОРИЗОНТЫ РАЗВИТИЯ Ecological Biophysics – Possible Horizons of Development

Барцев С.И.^{1,2}, Дегерменджи А.Г.¹, Дегерменджи Н.Н.³, Салтыков М.Ю.^{1,2}, Сарангова А.Б.²

¹ Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, РФ, *BartsevSI@ibp.ru*

² Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ

³ Красноярский государственный медицинский университет, г. Красноярск, РФ

Но на пути исследования экологических систем стоит одно из принципиальных препятствий – их уникальность. Уникальность экосистем, приводит к тому, что необходимое требование научных исследований – воспроизводимость экспериментов – не может быть полностью удовлетворено при их изучении. Общее решение проблемы воспроизводимости экологических экспериментов и применение полученных результатов к другим экосистемам стали бы возможны после разработки формальной процедуры для установления подобия между моделями уникальных систем. Принципиальная осуществимость одной из таких формальных процедур была показана на примере очень абстрактной модели нейронной сети [1,2] позволившей ввести понятия функциональной симметрии и функционально-инвариантных преобразований. С помощью этой процедуры возможно, например, преобразование модели экосистемы в более простую модель с сохранением выделенного свойства, например, устойчивости к малым возмущениям, причем для осуществления этой процедуры не нужно находить собственные значения – процедура сама их сохраняет.

Следующим важным препятствием на пути использования моделей экосистем к оценке устойчивости реальных экосистем является противоположный ход зависимостей устойчивости экосистемы от числа входящих в нее видов в случае реальных экосистем и их классических математических моделей [3-6]. Возможное разрешение этого противоречия можно осуществить с помощью моделей, основанных на гипотезе о лабильности стехиометрических коэффициентов, которые могут быть названы моделями с гибким метаболизмом [7] – ГМ-моделями.

Наличие высокого уровня замкнутости потоков биогенов в биосфере за последние 10 млн. лет и необходимость глобальной сбалансированности этих потоков для обеспечения длительного существования биосферы порождают интересный парадокс [8-9], который можно назвать парадоксом Вернадского-Дарвина: «Замкнутость биосферы не является приспособительным признаком особи (вида)». Действительно, естественный отбор приводит к успеху организм, который способен захватить максимум ресурсов и оставить большое количество потомков здесь и сейчас. Одним из возможных инструментов разрешения этого парадокса является переход к моделям гибкого метаболизма.

Сложность системы «биосфера-климат» (СБК), наличие множества разнообразных обратных связей и принципиальная нелинейность составляющих ее экологических и климатических компонентов и/или подсистем заставляют сделать допущение, что отклик СБК на равномерно возрастающее антропогенное воздействие может иметь пороговый, и в худшем случае, катастрофический характер. Из самых практических соображений наибольшее внимание должен привлекать не самый вероятный, а самый неблагоприятный, но, тем не менее, допустимый сценарий. Это соображение, выраженное в «принципе наилучшего сценария» [10] дает конструктивную процедуру построения концептуальных малоразмерных моделей, позволяющих оценивать влияние небольшого количества факторов на динамику биосферы. Были выделены положительные обратные связи, способные привести к запуску самоподдерживающегося потепления Земли, если перейдена так называемая «дата необратимости». Предложена концептуальная модель множественных климатических переключений СБК, наблюдаемых в глобальной динамике за последние 40 лет.

1. Барцев С.И., Барцева О.Д. Симметрии структуры и эквивалентность эволюционных исходов в простых нейросетевых моделях // Доклады РАН, 2002, т. 386, № 1, с. 114-117.
2. Барцев С.И., Барцева О.Д. Функционально-инвариантный подход к проблеме уникальности биологических систем: простая нейросетевая модель // Доклады РАН, 2005, т. 405, № 4, с. 1-4.
3. Адамович В.В., Дегерменджи А.Г. Статистические закономерности организации маловидовых стационарных сообществ микроорганизмов // Ж. Общей биологии, 1985, т. XLVI, № 4, с. 527-532.
4. Свирежев Ю.М. Логофет Д.О. Устойчивость биологических сообществ. М.: Наука, 1978, 352 с.
5. Ives A.R., Carpenter S.R. Stability and diversity of ecosystems // Science, 2007, vol. 317, pp. 58-62.
6. May R.M. Stability in multi-species community models // Mathematical Biosciences, 1971, vol. 12, pp. 59-79.
7. Saltykov M.Yu., Bartsev S.I., Lankin Yu.P. Stability of closed ecology life support systems (CELSS) models as dependent upon the properties of metabolism of the described species // Adv. Space Res., 2012, vol. 49, no. 2, pp. 229-223.
8. Barlow C., Volk T. Open systems living in a closed biosphere: a new paradox for the Gaia debate // BioSystems, 1990, vol. 23, no. 4, pp. 371-384.
9. Bartsev S.I., Degermendzhi A.G., Sarangova A.B. Closure of Earth's Biosphere: Evolution and Current State // Journal of Siberian Federal University. Biology, 2019, vol. 12, no. 3, pp. 337-347.
10. Bartsev S.I., Degermendzhi A.G., Erokhin D.V. Principle of the worst scenario in the modelling past and future of biosphere dynamics // Ecological Modelling, 2008, vol. 216, no. 2, pp. 160-171.

БИОМОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД РУСЛА РЕКИ КАЛЬМИУС НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА ДОНЕЦКА С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ ФЛУОРИМЕТРИИ

Biomonitoring of the State of Surface Water of the Kalmius River in the Territory of Donetsk Using Fluorimetry Methods

Беспалова С.В., Чуфицкий С.В., Романчук С.М.

Донецкий национальный университет, г. Донецк, ДНР, chufitsky@donnu.ru

Для мониторинга состояния поверхностных вод русла реки Кальмиус была выбрана 21 мониторинговая точка. Мониторинговые точки были выбраны таким образом, чтобы обеспечить оценку состояния поверхностных вод как самой реки, так и ее основных притоков. Так же точки располагались в местах попадания сточных вод из потенциальных источников загрязнения. Мониторинговые точки располагались до попадания сточных вод шахты им. А.Ф. Засядько в русло реки Кальмиус, вдоль Нижнекальмиусского водохранилища, после попадания сточных вод ПАО «Донецкий металлургический завод», русле реки Дурная, после впадения р. Дурная в р. Кальмиус. Так же проводились исследования по оценке состояния водоемов в черте города Донецка, воды которых попадают в русло реки Кальмиус. Были обследованы пруды, расположенные на территории Центрального парка культуры и отдыха им. А.С. Щербакова, Донецкого ботанического сада, пруда Песчаный, озера Кирша, водохранилища Донецкое море и пруда Алексеевский.

Отбор проб производили в утреннее и дневное время объемом 2 дм³. Во время отбора проб проводили измерения освещенности и температуры воды. Определение содержания хлорофилла и других фотопигментов осуществлялось согласно ГОСТ 17.1.4.02-90 [1]. При фильтровании клетки фитопланктона осаждали на ацетилцеллюлозные мембранные фильтры типа МФАС–ОС–4 фирмы «Владипор» с диаметром пор 0,6 мкм с помощью насоса Комовского. Флуориметрический анализ проб воды проводился с помощью флуориметров Phyto-РАМ (Walz, Германия) и ФС-2 (СКТБ «Турбулентность» ДонНУ).

Все исследования выполнялись в осенний период. Пробы воды отбирали в первой половине дня при освещенности 30–50 тыс. Лк. Температура проб воды составляла от 14°C до 18°C. Измерения уровня освещенности и температуры проб осуществляли непосредственно в момент отбора проб. При транспортировке проб избегали попадания прямых солнечных лучей на емкости с водой. Перед проведением флуориметрических измерений пробы воды помещали в затемненное место не менее чем на 30 минут для темновой адаптации. Непосредственно перед выполнением измерений пробы взбалтывали, чтобы избежать оседания клеток фитопланктона после темновой адаптации.

При биомониторинге р. Кальмиус в 16 мониторинговых точках основную долю фотопигментов занимали хлорофиллы *a* и *b*, с преобладанием хлорофилл *a*–содержащих клеток. Также был выявлен ряд точек с высоким содержанием фотосинтетических пигментов (Нижнекальмиусское водохранилище, пруд Песчаный и т.д.). Для данных проб воды было характерно содержание значительного количества сине-зелёных водорослей, которые доминировали над другими видами фитопланктона, что может свидетельствовать о высокой степени эвтрофикации данных точек. Таким образом, можно судить о потенциальном загрязнении в данных мониторинговых точках, а также о необходимости проведения биотестирования, по оценке токсичности проб воды. Выявлена корреляционная зависимость между индексом Маргалефа и отдельными параметрами флуоресценции, которые в дальнейшем могут служить в качестве дополнительных показателей «физиологического» состояния клеток фитопланктона.

В результате анализа световых кривых было установлено значительное снижение максимального квантового выхода и максимальной скорости электронного транспорта в мониторинговых точках Нижнекальмиусского водохранилища, р. Дурная и прудов Ботанического сада. При этом ухудшение регистрируемых параметров флуоресценции было получено для нескольких групп фитопланктона в мониторинговой точке около ПАО «Донецкий металлургический завод», что свидетельствует о загрязнении данного участка русла реки Кальмиус. При регистрации индукционных кривых флуоресценции хлорофилла наибольшие отклонения исследуемых параметров были получены для проб из Нижнекальмиусского водохранилища, русла реки Кальмиус около ПАО «Донецкий металлургический завод», а также пруда Алексеевский. Таким образом, в данных мониторинговых точках наблюдали негативные изменения в функционировании фотосинтетического аппарата клеток фитопланктона.

При проведении биомониторинга поверхностных вод реки Кальмиус с применением различных методик регистрации флуоресценции клеток фитопланктона были получены данные о загрязнении отдельных мониторинговых точек. Стоит отметить, что для всех используемых при мониторинге подходов (оценка пигментного состава проб, регистрация световых кривых и регистрация кривых индукции флуоресценции) были получены сходные результаты, что свидетельствует о достоверности и информативности метода флуориметрии при биомониторинге поверхностных вод.

1. ГОСТ 17.1.4.02-90. Вода. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла – а. Издательство стандартов, 1990 г., 15 с.

PLACOZOA КАК ЛАКМУСОВАЯ БУМАЖКА ЗАКИСЛЕНИЯ ОКЕАНОВ

Placozoa as a Litmus Test for Ocean Acidification

Булков В.А.¹, Савченко Е.В.¹, Кузнецов А.В.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, breeribread@gmail.com

² ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Быстро растущие выбросы углекислого газа в атмосферу [1] ведут к снижению pH морской воды со скоростью 0,02 единицы в десятилетие (IPCC, 2013), что влияет на морские организмы. В частности, было показано что, Placozoa очень чувствительны к кислотному стрессу [2]. Placozoa, встречаются в большинстве тёплых Океанов от 53° с.ш. до 60° ю.ш. на глубине до 20 м, т.е. в зоне максимально подверженной закислению из-за растворения атмосферного CO₂ в толще воды.

Трихоплакс (тип Placozoa) представляет собой простейшее животное с примитивным планом строения [3] и является предком всех многоклеточных животных [4]. Поэтому интересно знать, как ведёт себя этот организм в условиях кислотного стресса.

Методика. Эксперименты проводились на двух гаплотипах трихоплакса: *Trichoplax* sp. H2 (гаплотип H2) и *Hoilungia hongkongensis* (гаплотип H13). Животные были выращены в Лаборатории «Биоразнообразие и функциональной геномики Мирового океана» Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН».

Животных культивировали на матах одноклеточной зелёной водоросли *Tetraselmis marina* при температуре 24-26 °C и естественной освещённости в стеклянных чашках Петри диаметром 90 мм, заполненных 3,5% искусственной морской водой (ASW) со значением pH 7,6-8,2. Каждую неделю осуществляли замену воды. За 30 мин перед началом эксперимента трихоплаксов 2 раза промывали и отсаживали в ASW на пластиковые чашки без водорослей [5].

Непосредственно для экспериментов, не менее 20 особей Placozoa помещали в вирусологические чашечки Петри диаметром 35 мм с 5 мл ASW, куда через 30 мин аккуратно и последовательно добавляли аликвоты по 10 мкл 1 М соляной кислоты (1 М HCl). После перемешивания раствора и экспозиции животных в течение 3-5 мин в кислоте, ранее распластанные по пластику трихоплаксы, поднимали края пластинки и формировали хорошо различимые характерные структуры, называемые «розетками».

Подсчитывали долю образовавшихся розеток, результаты выражали графически в виде кривой титрования для каждого опыта. Полученные семейства сигмоидных кривых являются количественной характеристикой чувствительности трихоплаксов к кислотному стрессу. Значение pH в чашечках Петри фиксировали в начале эксперимента и в точке перегиба с помощью портативного измерителя кислотности PH-107 фирмы CyberTech (China).

Результаты. Было проведено по три опыта для трихоплаксов каждого гаплотипа. Всего использовали около 100 животных. Результаты титрования 1 М соляной кислотой представлены в виде семейства S-образных кривых на графиках (рис. 1).

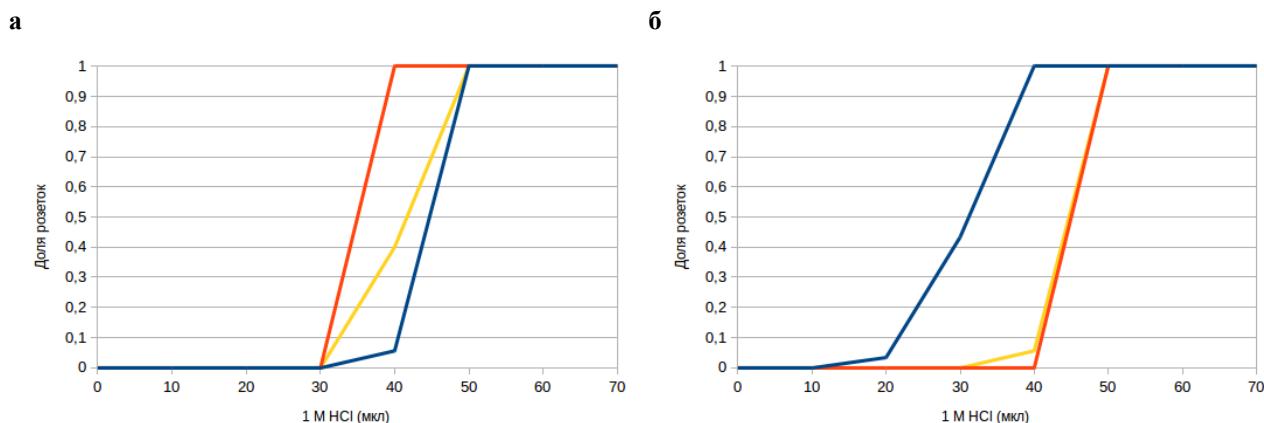


Рисунок 1. Зависимость изменения морфологии трихоплаксов от количества добавленной кислоты, а) *Trichoplax* sp. H2 (гаплотип H2), б) *Hoilungia hongkongensis* (гаплотип H13)

Согласно экспериментальным данным (рис. 1), при добавлении 50 мкл 1 М соляной кислоты к 5 мл ASW со значением pH=7,4–8,3 все находящиеся в пробе трихоплаксы переходили из нормального состояния «пластинка» в патологическое состояние «розетка». В начале экспериментов pH-метр показывал значение pH=7,4–8,3, а после того как все трихоплаксы превращались в «розетки» – 4,0. Следовательно, значение pH=4.0 является критическим для обоих гаплотипов трихоплакса.

Минимальное количество добавленной 1 М соляной кислоты при котором начинали появляться розетки составило 40 мкл для *Trichoplax* sp. H2 и 20 мкл для *Hoilungia hongkongensis*, соответственно. Таким образом, *H. hongkongensis* оказалась более чувствительной к кислотному стрессу, чем *Trichoplax* sp. H2.

Обсуждение. В отличие от работы [2], где изучался длительный рост трихоплаксов *Trichoplax adhaerens* (т.е. гаплотип H1) в аквариумах со значениями pH=8,0 и 7,6, что приводило к вытягиванию трихоплаксов штамма H1 в длинные нити, мы работали с гаплотипами H2 и H13, которые реже образуют удлинённые формы. Кардинальным отличием наших экспериментов от [2] было использование животных, отмытых от среды культивирования, и добавление точных аликвот 1М соляной кислоты, т.е. количественное титрование раствора (ASW) с трихоплаксами. Подсчёт доли животных с пластинкой, напоминающей розетку, позволил построить S-образные кривые кислотного титрования и выявить точки перегиба (перехода) от дискообразной пластинки к пластинке-розетке при соответствующем значении pH. Построенные семейства сигмовидных кривых для отдельных экспериментов, отличающихся зрелостью культуры трихоплаксов, показали, что *Hoilungia hongkongensis* (H13) более чувствительна к закислению среды, чем *Trichoplax* sp. H2. Доказанная чувствительность трихоплаксов к изменению pH и хорошо заметная реакция этих животных на кислотный стресс могут позволить использовать этих животных и их кислотные сенсоры для мониторинга окружающей среды.

Выводы.

1. Экспериментально доказана чувствительность *Hoilungia hongkongensis* (H13) и *Trichoplax* sp. H2 к закислению среды.
2. Значение pH=4,0, при котором все особи трихоплакса формируют розетки, является критическим.
3. Трихоплаксы могут быть перспективными организмами для разработки систем биомониторинга закисления морских акваторий.

1. Neftel A., Moor E., Oeschger H., Stauffer B. Evidence from polar ice cores for the increase in atmospheric CO₂ in the past two centuries // *Nature*, 1985, vol. 315, pp. 45-47.
2. Schleicherová D., Dulias K., Osigus H.-J. et al. The most primitive metazoan animals, the placozoans, show high sensitivity to increasing ocean temperatures and acidities // *Ecol. Evol.*, 2017, vol. 7, pp. 895-904.
3. Schierwater B., Eitel M., Jakob W. et al. Concatenated analysis sheds light on early metazoan evolution and fuels a modern "urmetazoon" hypothesis // *PLoS Biol.*, 2009, vol. 7 (1), p. e20.
4. Syed T., Schierwater B. The Evolution of the Placozoa: A new morphological model. Concepts of Functional, Engineering and Constructional Morphology // Special issue of *Senckenbergiana lethaea*, edited by Michael Gudo, Mathias Gutmann, Joachim Scholz. Frankfurt am Main, 2002, vol. 82 (1), pp. 315-324.
5. Kuznetsov AV, Halaimova AV, Ufimtseva MA, Chelebieva ES. Blocking a chemical communication between *Trichoplax* organisms leads to their disorderly movement // *International Journal of Parallel, Emergent and Distributed Systems*, 2020, vol. 35 (4), pp. 473-482. doi: 10.1080/17445760.2020.1753188
6. IPCC Intergovernmental Panel on Climate Change 2013. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ ГАЗОНАПОЛНЕННЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ: СТРУКТУРА И СВОЙСТВА

Biodegradable Porous Composite Materials: Structure and Properties

Григорьева Е.А.¹, Колесникова Н.Н.¹, Попов А.А.^{1,2}, Ольхов А.А.^{1,2,3}

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, РФ

² Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, г. Москва, РФ

³ Институт физической химии им. Н.Н. Семёнова, г. Москва, РФ, raraavis171009@rambler.ru

В работе предложено создание биоразлагаемых газонаполненных материалов на основе полиэтилена (ПЭ) путём введения природного биодеструктурируемого компонента. Данный подход позволяет обеспечить ускоренное разложение синтетических материалов в естественной среде, что является допустимой альтернативой в случае невозможности проведения их сбора и вторичной переработки.

Для получения газонаполненных композиционных материалов были взяты полимер — полиэтилен низкой плотности (ПЭ), газообразующий агент — гидрокарбонат натрия (гид) и природный компонент. В случае одной композиции природным компонентом служила древесная мука хвойных и лиственных пород (ДМ), в случае другой композиции – кукурузный крахмал (кр). Газообразующий агент вводился в количестве 1,5 % мас., природный компонент – в количестве 30 % масс. Обе природные добавки представляли собой массы дискретных частиц фракцией до 100 мкм.

На первом этапе исследования были определены физические параметры полученных материалов: плотность и пористость, средние диаметры пор. Величина плотности составила 0,6–0,7 г/см³, что ниже величины плотности ПЭ, взятого в качестве контрольного образца, – 0,92 г/см³. Поры в структуре материалов имеют сферическую форму, более или менее равномерно распределены по всему объёму. Во всех образцах преобладали поры диаметром до 0,20 мм.

Для определения способности к биоразложению с образцами были проведены эксперименты по водопоглощению и определению изменения прочности после натуральных испытаний в почве открытого грунта. Образцы газонаполненных композиционных материалов показали увеличенное водопоглощение по сравнению с контрольным образцом. Максимально высокое водопоглощение было достигнуто у газонаполненного образца с содержанием 30 мас. % древесной муки (33 % по массе образца). По границам раздела фаз «полимер-газ» и «полимер-наполнитель» вода проникает дальше в толщу пористого пространства материала. Вследствие водопоглощения осуществляется движение микроорганизмов внутрь матрицы, обеспечиваются благоприятные условия для их развития. Под действием ферментов, выделяемых микроорганизмами, может происходить гидролиз и окисление природных наполнителей в материалах. При этом продукты разложения наполнителей – низкомолекулярные вещества с более высоким коэффициентом диффузии, чем полимер и наполнитель.

Образцы выдерживались в почве открытого грунта в течение шести месяцев, затем направлялись на испытание на растяжение. Результаты показаны в таблице 1.

Таблица 1. Изменение прочности материалов при натуральных испытаниях

Композиция	Прочность, σ , МПа ($\pm 0,5$ МПа) (до натуральных испытаний)	Прочность, σ , МПа ($\pm 0,5$ МПа) (после 6 мес. натуральных испытаний)	Изменение прочности, %
ПЭ	6,8	6,8	0,0
ПЭ+1,5%гид	4,1	3,6	11,5
ПЭ+1,5%гид+30%ДМ	3,1	2,6	15,8
ПЭ+1,5%гид+30%кр	2,3	1,7	26,1

За краткий период натуральных испытаний у образцов композиционных материалов величина прочности понизилась. Это можно объяснить влиянием удельной поверхности пор в материале. Известно, что макромолекулы на поверхности отличаются от макромолекул в толще полимера, находятся в термодинамически неравновесном состоянии. Возрастает доля напряжённых макромолекул с деформированными растянутыми связями. Из литературных источников известно, что в данном случае их реакционная способность возрастает экспоненциально с величиной относительной деформации связи. Значительно ускоряются химические процессы, сопровождающиеся переходом атома углерода основной цепи из состояния sp^3 гибридизации в sp^2 . К таким процессам относится отрыв атома водорода различными акцепторами (кислород, озон и др.), разрыв основной цепи. Полимер будет активнее взаимодействовать с кислородом, агрессивными средами (водой, кислотами), ферментами и продуктами метаболизма микроорганизмов, использующих наполнитель в качестве источника питания. Таким образом, можно утверждать, что газонаполненные композиционные материалы имеют большую тенденцию к разложению в условиях окружающей среды.

РАЗРАБОТКА АВТОНОМНОЙ ЭКСПЕДИЦИОННОЙ УСТАНОВКИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Development of an Autonomous Expeditionary Installation for the Study of Microalgae *in vivo*

Гулин А.С., Тренкеншу Р.П.

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ, gulins_gent@mail.ru

В настоящее время микроводоросли все чаще используются в научно-исследовательских и промышленных целях. Они служат источниками витаминов, растительного белка и т.д. и представляют интерес в качестве объекта марикультуры [1, 2]. Микроводоросли имеют короткий цикл роста, а производство не требует больших затрат: для их выращивания необходимы только вода, солнечный свет и питательные вещества, они не занимают плодородные земли, нет сезонных ограничений. В связи с изложенными аспектами возникает вопрос о способах культивирования микроводорослей.

При изучении микроводорослей культура из водоема, как правило, помещается в культиватор в лаборатории. Но в результате получают косвенные данные, вызванные многими факторами, такими как несоответствие температуры и химического состава воды в лабораторном культиваторе параметрам природного водоема. Но очень часто возникает необходимость проведения исследований непосредственно возле водоема в экспедиционных условиях, когда использование стационарных лабораторных установок практически невозможно.

В данной работе предлагается проект мобильной установки, которая обеспечивает рост культуры микроводорослей как в накопительном режиме, так и в режиме хемостата, при требуемых удельных скоростях протока. Основным преимуществом установки является возможность использования в полевых условиях при

организации экспедиционных работ. Применение установки позволит производить исследование культур микроводорослей в условиях максимально приближенных к натуральным, поскольку и культура, и вода берутся непосредственно из водоема. А температура и химический состав соответствуют природным характеристикам.

Исходя из поставленных задач, определен список систем необходимых в экспедиционной установке, а также требования к ним [3, 4]:

1. Фотобиореактор;
2. Система освещения;
3. Система газообеспечения;
4. Система термостабилизации;
5. Система обеспечения непрерывного культивирования;
6. Контрольно-измерительная система;
7. Система подачи питательной среды;
8. Система питания.

В предложенном проекте разработана оптимальная конструкция, которая обеспечивает контроль основных параметров роста и физиологического состояния, а также возможность простого управления ими, так же представлена структурная схема автономной экспедиционной установки.

Отличительными особенностями данной разработки является мобильность, надежность конструкции и доступность ремонта, а также невысокая стоимость.

Использование установки в экспедиционных условиях, позволит быстро получить данные о росте различных видов и штаммов микроводорослей, не покидая водоема, и при отсутствии лабораторных условий.

1. Курс низших растений. М.: Высшая школа, 1981, 520 с.
2. Минюк Г.С., Дробецкая И.В., Чубчикова И.Н., Терентьева Н.В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор // МЭЖ, 2008, № 2, с. 5-23.
3. Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура // Экология моря, 2005, № 67, с. 89-97.
4. Перт С.Д. Основы культивирования микроорганизмов. М.: Мир, 1978, 331 с.

АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИН ОСИНЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕХНОГЕННОГО ФАКТОРА

Analysis of Morphological Parameters of Aspen Leaf Plates under the Influence of a Technogenic Factor

Гурова Н.Н.¹, Дигурова И.И.²

¹ Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, РФ, *nina-guro@mail.ru*

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва, РФ

Под влиянием техногенных воздействий происходит изменение морфологических параметров древесных растений [1]. В связи с этим представляет интерес морфометрический анализ листьев осины в смешанном насаждении около действующего факела для сжигания попутных газов Ачинского нефтеперерабатывающего завода. Исследования проведены в точке удаленного контроля (фон, в 13,5 км от факела) (n=140) и опушках леса, ближней (500 м от факела) (n=246) и дальней (700-800 м от факела) (n=194). Для возможного выявления скрытой информации были применены альтернативные математические методы.

Использование критерия Краскела-Уоллиса показало, что периметр и площадь листовых пластин осины для рассматриваемых площадок не относятся к одной совокупности. С помощью диаграмм Box-and-Whisker-Plot выявлено сужение прямоугольников, в которых заключено 50% наблюдений. С наветренной стороны интерквартильный размах периметра листа уменьшился в 1,2 раза, а его площади – в 1,3 раза по сравнению с фоновыми значениями (рис. 1, 2). Результаты кластерного анализа фрактального показателя (отношения периметра листа к корню квадратному из его площади) представлены в таблице 1. Отмеченная оптимизация морфометрических показателей менее выражена, чем выявленная ранее для березы в этом же насаждении [2].

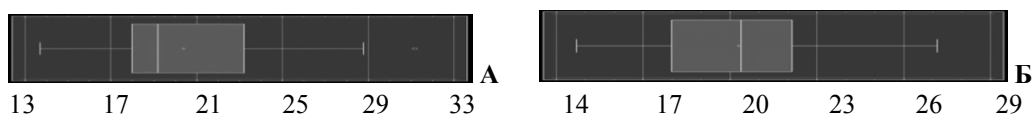


Рисунок 1. Площадь листовой пластины осины на удаленном фоне (А) и на опушке с наветренной стороны (Б)

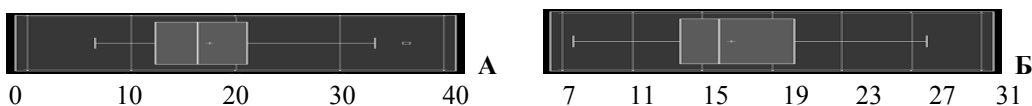


Рисунок 2. Периметр листовой пластины осины на удаленном фоне (А) и на опушке с наветренной стороны (Б)

Таблица 1. Результаты кластерного анализа фрактального показателя листовой пластины осины

Кластеры	Наветренная опушка		Подветренная опушка		Фон	
	P/S ^{0,5}	% листьев	P/S ^{0,5}	% листьев	P/S ^{0,5}	% листьев
1	4,634	54	4,569	28	4,613	58
2	4,633	46	4,551	72	4,594	42
1	4,626	40	4,582	56	4,707	12
2	4,625	29	4,534	33	4,575	56
3	4,652	31	4,496	11	4,603	32
1	4,615	31	4,513	7	4,600	6
2	4,679	12	4,585	47	4,579	36
3	4,636	30	4,589	20	4,625	50
4	4,633	27	4,492	26	4,604	8

Таким образом, методы классификационного анализа позволили выявить изменения морфометрических показателей листовой пластины осины в ответ на действие техногенного фактора.

1. Тюлькова Е.Г. Зольность и морфометрические параметры листьев древесных растений как индикаторы загрязнения окружающей среды (на примере г. Гомеля) // *Известия Гомельского государственного университета им. Ф. Скорины*, 2016, № 3, с. 64-69.

2. Гурова Н.Н., Дигурова И.И. Изменение морфометрических параметров листовой пластины при действии техногенного фактора // *Сборник научных трудов VI съезда биофизиков России*: в 2 томах – Краснодар: Полиграфическое объединение «Плехановец», 2019, т. 2, с. 342-343.

ВЛИЯНИЕ ФУЛЛЕРЕНА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ

The Effect of Fullerene on the Growth and Development of Aquatic Organisms

Даллакян Г.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ, honaris@bk.ru

В связи с возрастающим производством фуллеренов и вероятностью их попадания в окружающую среду особенно актуальной становится исследования их воздействия на биологические системы, в частности – на водные организмы. Водные организмы, в ходе своей предшествующей эволюции никогда не сталкивались со многими синтезированными человеком веществами, в том числе и с водной дисперсии фуллерена (ВДФ) (в дальнейшем - фуллерены), поэтому не исключена постепенная аккумуляция фуллеренов в водоемах, это может иметь непредсказуемые последствия для всей водной экосистемы в целом [1].

Выбор исследуемых гидробионтов связано с тем, что водоросли *Scenedesmus quadricauda* и планктонные ракообразные *ceriodaphnia dubia* являются тест-объектами в водной токсикологии. К настоящему времени проведены ряд исследования воздействия ВДФ С₆₀ на водные микроорганизмы, и ракообразных, однако их результаты носят противоречивый характер.

Целью настоящей работы было исследование влияние ВДФ С₆₀ на гидробионты разных трофических уровней водорослей *Sc. quadricauda*, и ракообразных *Ceriodaphnia dubia*.

ВДФ С₆₀ получено на кафедре аналитической химии химического факультета МГУ. Авторы выражают благодарность сотрудникам кафедры за помощь и консультации при выполнении работы. Микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) выращивали на среде Успенского № 1 в люминостате, освещенность 3 клон, при температуре 22±2 °С. Эксперименты с *ceriodaphnia dubia* проводили в соответствии с известными методическими рекомендациями по культивированию церодафии. Эффективность фотосинтеза измеряли по методике описанного в работе [2].

Исследовано воздействия водной дисперсии фуллерена С₆₀ в концентрациях 1, 5 и 10 мг/л на численность клеток, эффективность фотосинтеза и долю живых клеток в накопительной культуре. Концентрация 10 мг/л фуллерена С₆₀ в питательной среде стимулировала эффективность фотосинтеза до 25% по сравнению с контролем, при этом численность клеток водоросли увеличивалась на 27%. Стимулирующий эффект был менее выражен в концентрациях 1 и 5 мг/л фуллерена. В процессе опыта клетки оставались жизнеспособными, при этом доля живых клеток была на уровне контроля (98–99%). Вторым этапом наших исследований, было планктонные ракообразные *ceriodaphnia dubia*, обладающие высокой чувствительностью к загрязнению водной среды

потенциально токсичными веществами различной химической природы. Воздействию исследованных концентраций фуллерена 0,1 и 1 мг/л на цериодафний показало увеличение размеров тела до 6% и плодовитости до 144% у особой опытных групп по сравнению с контрольной. При воздействии большей концентрации 1 мг/л эти отличия более значимы.

В заключении можно сказать, что воздействие фуллерена на водоросли и цериодафни приводит к лучшему росту культуры по выживаемости и по физиологическим параметрам. Возможно, это связано с антиоксидативной активностью фуллерена, которые стабилизируют свободнорадикальные процессы в клетке и инактивируют активные формы кислорода, образующиеся в среде культивирования во время роста культуры. [3]. Кроме того, фуллерены, проникая в клетку благодаря своим мембранотропным свойствам, по-видимому влияют на темп деления клеток, способствуя усиленному росту клеток водорослей.

1. Мошарова И.В., Даллакян Г.А., Михеев И.В. и др. Изменения количественных и функциональных характеристик бактериопланктона под влиянием водных дисперсий немодифицированного фуллерена C₆₀ // Доклады академии наук, 2019, т. 487, № 2, с. 217-220.

2. Погосян С.И., Гальчук С.В., Казимирко Ю.В. и др. Применение флуориметра "МЕГА-25" для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата // Вода: химия и экология, 2009, № 6, с. 34-40.

3. Думпис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В. и др. Биологическая активность фуллеренов – реалии и перспективы // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2018, т. 16, № 1, с. 4-20.

НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В БИОФИЗИКЕ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ

New Directions in Biophysics of Aquatic Ecosystems

Дегерменджи А.Г.¹, Дегерменджи Н.Н.²

¹ Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, РФ, ibp@ibp.ru

² Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, РФ, nn1947@yandex.ru

Возрастающая интенсивность потребления воды быстро приближает время, когда пресная вода станет одним из основных природных ресурсов, лимитирующих развитие цивилизации не менее жестко, чем источники энергии. Уметь прогнозировать экологические последствия деятельности водопользователей, оптимально удовлетворять их потребности – насущные прикладные задачи водной экологии [1].

Целевая установка биофизики экосистем – создание достаточного уровня знаний об элементарных физико-биохимических механизмах функционирования водных экосистем для адекватного прогнозирования их естественной и "антропогенной" динамики и управления их состоянием. В настоящее время уровень наших научных знаний об устройстве экосистем рек, озер и водохранилищ и опыт "положительного" управления состоянием водоемов говорит за то, что вопросов больше, чем ответов. Весомость ответов заметно меньше глубины и объемности экологических проблем и это связано с рядом объективных трудностей водной экологии как науки.

В докладе представлены новые экспериментальные и теоретические результаты исследования механизмов устойчивости и управляемости сообществ гидробионтов (микроорганизмов) в открытых водных экосистемах. В основе доклада – поиск и изучение физико-химических механизмов действия плотностных контролирующего роста факторов (ПКРФ) и закономерностей устойчивого сосуществования природных популяций. Достигнуты экспериментальные и теоретические результаты: 1) развиты элементы математической теории подобия водных экосистем на основе совместных эколого-гидрофизических уравнений динамики их состояния в безразмерном виде. Это позволяет определить дополнительно к известным параметрам подобия (Рейнольдса, Фруда и др.) новые, в которых экологические "микропараметры" выступают наравне с гидрофизическими, что может быть основой для принципов переноса лабораторных результатов на природные; 2) доказана связь (теорема) предельного числа сосуществующих видов (n) и числа ПКРФ (m): $n < m$ [2]; 3) через изменение входных ПКРФ предложены правила формирования структуры сообщества с наперед заданным видовым составом и методы поиска ПКРФ; 4) открыто фундаментальное явление аутостабилизации ПКРФ [3]: независимость фоновых уровней ПКРФ от их входных потоков (т.е. равенство нулю коэффициентов чувствительности (КЧ) ПКРФ); доказана и проверена экспериментально обобщенная теорема о «квантовании»: сумма всех КЧ всегда целое число(!) и в точности равна разности числа ПКРФ и числа популяций в сообществе ($\sum КЧ = m - n$); 5) предложен новый критерий классификации межпопуляционных микробных взаимодействий через отклик ускорения скорости роста одной из популяций при изменении численности другой (как мера суммарного действия всех ПКРФ); новая классификация взаимодействий сопоставлена с классической; 6) предложен новый взгляд на биотесты (в частности биолуминесцентные) как интегральные показатели состояния экосистем; 7) на микроводорослевых, бактериальных и дрожжевых сообществах показана полная адекватность экспериментальных и теоретических механизмов устойчивости и управляемости состава сообществ; проверены способы управления уровнем "цветения" типичных доминантных видов сине-зеленых микроводорослей в

лабораторной культуре. Полученные результаты приложены к прогнозу состояния водных экосистем Сибири (Красноярского, Кадатского, озер Хакасии [1]) и реальному управлению качества воды водохранилищ (Кантатского и др.). Обсуждается общеэкологическая значимость полученных результатов в плане принципиального улучшения прогнозной "силы" математических моделей водных экосистем.

1. Gulati R.D., Wolf M., Mooij W.M., Degermendzhy A.G. Preface to the Siberian lakes. Special issue // *Aquatic Ecology*, 2010, vol. 44, no. 3. doi: 10.1007/s10452-010-9338-4

2. Дегерменджи А.Г., Абакумов А.И. Принцип конкурентного исключения в двухвидовом сообществе с одним метаболическим фактором регуляции // *Доклады Академии наук*, 2018, т. 480, № 4, с. 495-498.

3. Degermendzhi A.G. Coexistence of microbial populations and autostabilization of regulating factors in continuous culture: theory and experiments // *Aquatic Ecology*, 2010, vol. 44, no. 3. doi: 10.1007/s10452-010-9325-9

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА НА ОРГАНИЧЕСКИХ ПОЧВЕННЫХ ЭКСТРАКТАХ БЕРЕГОВ КРАСНОЯРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА Mathematical Simulation of Bacterioplankton Dynamics on Organic Soil Extracts of Krasnoyarsk Reservoir

Дегерменджи Н.Н.

Красноярский государственный медицинский университет, г. Красноярск, РФ, nn1947@yandex.ru

Красноярское водохранилище представляет собой глубокий слабопроточный водоем с преимущественно сезонно-контролируемым протоком. В разнообразном использовании водохранилища преобладает гидроэнергетика. Площадь водного зеркала составляет 2000 кв. км., объем – 73.3 куб. км., длина - около 390 км, средняя ширина – 5–6 км, наибольшая ширина – 15 км, средняя глубина – 27 м, максимальная глубина – 105 м. Среднегодовой расход у напорного трубопровода плотины – 80–90 куб. км/год. Одной из отличительных характеристик водохранилища является значительная переменность уровня водной поверхности – от 234 до 225 м, т.е. диапазон составляет 18 м. Возраст водохранилища – 37 лет. Гидробиология водохранилища характеризуется интенсивным “цветением” сине-зеленых водорослей, достигающим до 1,4–3,3 г/куб. м сухого веса. (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Melosira granulata* (0,34 г/куб. м) и *Fragilaria crotonensis* (0,31 г/куб. м)).

Полное описание микробиологического блока водных экосистем должно основываться не только на стехиометрии элементного цикла, но также на кинетических характеристиках процессов и их зависимости от условий среды во время эксперимента. Введение экспериментальных кинетических характеристик в математические прогнозные модели представляет собой прогрессивный путь и должно способствовать повышению адекватности теории при прогнозировании состояния экосистемы. Основные трудности возникают при выборе субстрата для экспериментов по кинетическим характеристикам. Общепринятое применение добавок органических веществ, таких как углеводороды, органические кислоты, пептон и т.д. - всего лишь модели природных компонентов субстратов. Анализ источников некоторых органических веществ в Красноярском водохранилище показал, что основным компонентом является процесс деструкции прибрежной зоны. Количество отложений при деструкции прибрежной полосы при прогнозе на десятилетний период составляет около 40% общего баланса, однако с завершением строительства Саянского моря (вверх по течению) оно поднимется до 73%. Разрушение лесных почв, чернозема способствует поступлению гумуса и других органических соединений в Красноярское водохранилище. Все это приводит к необходимости исследования удельной скорости роста (УСР) бактериопланктона (Б) на почвенных экстрактах материалов разрушения береговой полосы и его поглощение, что и представлено в докладе, Установлено, что зависимость УСР общего количества Б (неидентифицированная смешанная культура) от уровня ХПК экстракта описывается уравнением Махаэлиса-Ментена как и для чистых культур. Математические расчеты динамики общей численности Б Сыдинского залива водохранилища позволяют сделать следующие выводы: 1) новый метод модельного насыщения кинетическими экспериментальными данными дает возможность рассчитать динамику Б существенно более адекватную; 2) более детальное описание экосистемы повышает адекватность прогноза; 3) анализ гидрологических расчетов показывает, что в среднем за сезон и за исключением периодов цветения результаты моделирования качественно, а для некоторых камер и составляющих и количественно приближаются к наблюдаемым. Это, в частности, справедливо для камер, на которые оказывает большое влияние реки, втекающие в них и создающие условия непрерывного протока. В настоящем докладе мы рассмотрели нетрадиционный подход к моделированию качества воды и динамики Б, основанный на цепочке теоретических и экспериментальных исследовательских этапов: синтез экосистемной модели, включающий кинетические характеристики --> проверка модели на основе существующих данных --> прогнозные расчеты. Данный экспериментальный метод получения кинетической информации совместно с моделированием может найти применение в различных сферах водопользования на водохранилищах.

СОДЕРЖАНИЕ p-ФАК В СПЕРМАТОЗОИДАХ МЫШИ ПРИ ВОСПРОИЗВЕДЕНИИ МИКРО- И ГИПЕРГРАВИТАЦИИ**p-FAK Content in Mice Spermatozoa under Modelling Micro- and Hypergravity****Жданкина Ю.С.^{1,2}, Огнева И.В.^{1,2}**¹ Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва, РФ, juliaszd@yandex.ru² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, РФ

К настоящему времени проблема взаимодействия живой клетки и гравитационного поля остается одной из самых малоизученных проблем биофизики клетки. Исследование механочувствительности и механотрансдукции в различных типах клеток может дать новые инструменты для модуляции некоторых аспектов их функционирования. Полученные нами ранее результаты свидетельствуют о возможной реорганизации актинового цитоскелета, ведущую роль в которой играет диссоциация немышечных изоформ альфа-актинина (1 и 4, в зависимости от микро- или гипергравитации) [1, 2, 3]. Поскольку связывание актина и альфа-актинина зависит от фосфорилирования последнего по тирозину, который является субстратом фокально-адгезивной киназы (ФАК), то в данной работе определяли содержание фосфорилированной формы ФАК в сперматозоидах мыши при кратковременной действии моделируемой микро- и гипергравитации (на уровне 2g).

Сперматозоиды выделяли из каудального эпидидимиса самцов мышей. Все процедуры с животными были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол №521 от 25 сентября 2019). Микрогравитационные условия создавали с использованием машины случайного позиционирования (группы RPM), гипергравитационные условия (группы 2g) – используя центрифугу. Культивирование проводили при температуре 37°C в течение 1, 3 и 6 часов. Содержание p-ФАК определяли методом Вестерн-блоттинга со специфичными антителами.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях микрогравитации уже через 1 час воздействия в сперматозоидах мыши относительное содержание p-ФАК превышает контроль на 99% ($p < 0,05$) и сохраняется на столь же высоком уровне через 3 часа. Однако через 6 часов содержание p-ФАК было ниже, чем в контроле на 50%. Иными были изменения в условиях гипергравитации – через час уровень p-ФАК соответствовал контрольному, через 3 часа – снизился на 33% ($p < 0,05$), и еще более низким он был через 6 часов пребывания в условиях 2g – ниже контрольного уровня на 79% ($p < 0,05$).

Взаимодействие фокально-адгезивной киназы и изформ альфа-актинина является достаточно сложным и неоднозначным. С одной стороны, фокально-адгезивная киназа фосфорилирует альфа-актинин, а с другой – фосфорилированный альфа-актинин снижает связывание Src и ФАК, препятствуя, в том числе, взаимодействию с интегринами [4]. Разнонаправленные изменения уровня фосфорилирования фокально-адгезивной киназы при уменьшении (при воспроизведении микрогравитации) и при увеличении (при гипергравитации на уровне 2g) внешнего механического напряжения могут свидетельствовать о ее вовлечении в механочувствительность и механотрансдукцию в сперматозоидах мыши.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН 65.4 и Программой стратегического академического лидерства (Сеченовский Университет).

1. Ogneva I.V., Biryukov N.S., Leinsoo T.A., Larina I.M. Possible role of non-muscle alpha-actinins in muscle cell mechanosensitivity // PLoS ONE, 2014, vol. 9, iss. 4, p. e96395. doi: 10.1371/journal.pone.0096395

2. Ogneva I.V., Usik M.A., Loktev S.S. et al. Testes and duct deferens of mice during space flight: cytoskeleton structure, sperm-specific proteins and epigenetic events // Scientific Reports, 2019, vol. 9, p. 9730. doi: 10.1038/s41598-019-46324-3

3. Ogneva I.V., Usik M.A., Biryukov N.S., Zhadnkina Yu.S. Sperm motility of mice under simulated microgravity and hypergravity // Int. J. Mol. Sci., 2020, vol. 21 (14), p. 5054. doi: 10.3390/ijms21145054

4. Craig D.H., Haimovich B., Basson M.D. Alpha-actinin-1 phosphorylation modulates pressure-induced colon cancer cell adhesion through regulation of focal adhesion kinase-Src interaction // Am. J. Physiol. Cell Physiol., 2007, vol. 293 (6), pp. C1862-74. doi: 10.1152/ajpcell.00118.2007

РЕАКЦИЯ СУЛЬФИДРИЛЬНОЙ РЕДУЦИРУЮЩЕЙ СРЕДЫ РАЗЛИЧНЫХ СУБСТРУКТУР ХРУСТАЛИКА НА ХРОНИЧЕСКОЕ ОБЛУЧЕНИЕ ЭМИ**The Reaction of the Sulfhydryl Reducing Medium of Various Lens Substructures to Chronic EMR Irradiation****Ибрагимова Ж.М., Мухтаров М.М., Байрамова С.Д.**Институт физиологии им А.И.Караева НАН Азербайджана, г. Баку, Азербайджан, jaluzi2009@gmail.com

Развитие окислительного стресса, интенсификация процессов перекисного окисления липидов в тканях под действием различных факторов отражается и на состоянии других биохимических показателей организма. Так, уровень ПОЛ тесно связан с содержанием эндогенных тиолов в тканях. SH-содержащие соединения в первую

очередь подвергаются окислению под действием продуктов ПОЛ, тем самым предохраняя от окисления другие функциональные группы и молекулы. Факторы, вызывающие в живых тканях усиление продукции активных форм кислорода, модификацию течения ПОЛ, естественно предположить, что будут влиять на тиоловое содержание в соответствующих органах и тканях. Эксперименты на крысах показали, что при относительно высокоинтенсивном облучении (30 мкВт/см²) до 14 дней в корковой части хрусталика происходит постепенный переход скрытых в структуре белка тиоловых групп в открытое (реакционно-способное) состояние, тогда как в ядре хрусталика проявляется обратный процесс – растет содержание скрытых (нереакционно-способных) белковых тиолов. Отметим, что полученные данные отличались большим разбросом. Разброс измеренных значений содержания тиолов в субструктурах хрусталика в течения облучения создает затруднения в восприятии общей картины (общей тенденции) изменений под действием такого низкоэнергетического фактора, как дециметровое ЭМИ. Т.е. выявляется следующая картина изменения содержания цитоплазматических тиолов при высокоинтенсивном облучении: упавший после 1 дня облучения уровень этого вида тиолов в коре хрусталика постепенно растет, достигает за 7-8 дней уровня контроля и дальнейшим облучением возрастает над контролем на ~60%; в ядре же наоборот, возросший после 1 дня облучения уровень тиолов постепенно падает до уровня контроля за 8-9 дней с дальнейшим снижением по отношению к контролю на ~30%. Окислительные повреждения белков могут сопровождаться изменением конформаций полипептидной цепи, поэтому вероятно раскрытие ранее замаскированных внутри белковой молекул SH-групп, которые также могут участвовать в дальнейших окислительно-восстановительных реакциях.

СУПЕРМОЛЕКУЛЯРНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ ПРОТЕОМНЫХ АНСАМБЛЕЙ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР ХРОМАТИНА РАСТЕНИЙ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

**Supermolecular Reorganization of Proteomic Ensembles of Supramolecular Structures of Plant Chromatin
under Stress Environmental Conditions**

Иванова Э.А.

Уфимский институт биологии РАН, УФИЦ УИБ РАН, г. Уфа, РФ, fiona_belobor@mail.ru

Исторический путь анализа морфологической адаптации, но уже с новым информационным содержанием: молекулярного морфогенеза → надмолекулярного → пространственно-топологической формы гомеоморфизма у растений [1].., всё больше приобретает физико-химическое истолкование в области молекулярной биологии развития, что сближает эти познания с физикой, наукой издавна опиравшейся на математику, которая способствовала развитию в понимании общих закономерностей, с которыми сталкивается биология. В этом случае биофизические закономерности рассматриваются как структуры в многомерном пространстве. Так как в настоящее время в жизнь науки активно внедряется супрамолекулярная химия, с позиции междисциплинарности [2], то в данной работе рассматривается её эколого-молекулярно-биологический аспект.

Цель данной работы рассмотреть, что происходит с протеомным ансамблем ядерных гистонов в супраструктурах тотальной хроматиновой матрицы, как ответ структуроустойчивости выживания растительного организма на внешние стресс факторы окружающей среды.

Идеальным модельным объектом, в этом случае, являются коллекционные семена ВИРа, преобразованные селекционерами из яровой пшеницы в озимую. Экспериментальный биохимический подход заключался: в выделении из клеточных ядер тотальной хроматиновой матрицы (ТХМ) **супра**-структур: Нп-лабильного нуклеоплазменного хроматина, Хр-I, Хр-II хроматинов соответственно непрочно- и прочносвязанных с ядерным матриксом (ЯМ) и самого ЯМ, из которых были выделены **супер**молекулярные ансамбли: «линкерных», «коровых» гистонов и негистонов.

Показан алгоритм динамики протеомных **супер**молекулярных ансамблей на поверхности раздела **супра**молекулярных структур ТХМ. Выявлена позиционирующая роль «коровых» гистоновых (Н3+Н4)" ансамблей в **супра**-блоках: Нп, Хр-II, ЯМ у озимого фенотипа, в зоне гомеоморфизма корневой системы, как интеграционной стабилизации 42ч пространственно-временной физиолого-генетической стрессоустойчивости организма по отношению к яровой пшенице.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № НИОКТР АААА-А18-118022190104-7. В работе использована приборная база Центра коллективного пользования «Агидель» УФИЦ РАН.

1. Том Р. Структурная устойчивость и морфогенез. М.: Логос, 2002, 117 с.
2. Лен Ж.М. Супрамолекулярная химия. Новосибирск, «Наука», 1998, 334 с.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОДУКТОВ РАЗЛОЖЕНИЯ ПЛАСТИКА НА
МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ГЕМОЦИТОВ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*
МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО СВЕТОРАССЕЯНИЯ**
The Effect of Plastic Decomposition Products on the Mechanical Properties of Hemocyte Membranes of *Mytilus Galloprovincialis*

Кальпа В.А.^{1,2}, Лантушенко А.О.²

¹ ФИЦ Морской гидрофизический институт РАН, г. Севастополь, РФ, vel.kalpa@gmail.com

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Средиземноморская мидия (*Mytilus galloprovincialis*) – двустворчатый моллюск из семейства митилид. В настоящее время этот вид распространён на мелководьях морей Атлантического, Индийского и Тихого океанов [1, 2].

Известно, что гемолимфа двустворчатых моллюсков представляет собой защитную транспортную систему кровообращения во внутренней тканевой среде, которая в значительной степени отвечает за поддержание гомеостаза и формирование физиологической адаптации моллюсков к изменяющимся условиям окружающей среды [3].

Изучение физиологических и иммунологических свойств гемолимфы двустворчатых моллюсков имеет большой научный и практический интерес, так как многие из этих моллюсков являются целевыми видами рыбного хозяйства и аквакультуры, широко используются в биоиндикации и экологическом мониторинге, а также могут служить в природе в качестве переносчиков болезней, поражающих, среди прочего, позвоночных животных. Исследования последних десятилетий показали, что состав и динамика популяции гемоцитов двустворчатых моллюсков, а также функциональные свойства циркулирующих клеток очень динамичны и зависят от внутренних (генетических, онтогенетических и физиологических) и внешних (экологические) факторов [3].

Эксперимент проводился на базе ФИЦ ИнБЮМ им. Ковалевского и ЦКП «Молекулярная структура вещества» СевГУ. В течение 7 дней моллюски содержались в десятилитровых аквариумах с проточной морской водой, по 15 штук в каждом. После акклиматизации к лабораторным условиям мидии использовались в эксперименте. В первом аквариуме концентрация фталатов была 0,4 мг/л, данная концентрация уже встречается в природе; во втором аквариуме концентрация фталатов была в 10 раз больше, то есть 4 мг/л. Отбор гемолимфы осуществлялся после суточного пребывания моллюсков в аквариумах с добавлением фталатов.

Важно отметить, что параллельно с данным исследованием по осмотической стойкости было проведено исследование жизнестойкости гемоцитов с помощью проточного цитометра на базе ФИЦ ИнБЮМ, результаты которого коррелируют с данным исследованием [4].

Эксперимент по осмотической стойкости проводился с помощью лазерного анализатора частиц «Ласка-ТМ» (Биомедицинские системы, Россия) в ЦКП «Молекулярная структура вещества». Для оценки размера клеток использовался метод малоуглового светорассеяния.

На второй день эксперимента в аквариуме с меньшей концентрацией фталатов около половины моллюсков погибло, в аквариуме с большей концентрацией выживших не было. В ходе исследований осмотической стойкости гемоцитов выживших моллюсков было выявлено, что данные клетки не изменяли свой объем при повышении осмотического давления, и, по-видимому, воздействие фталатов привело к их гибели.

В рамках данного исследования был проведен осмосмет при помощи лазерного анализатора «Ласка-ТМ». К раствору гемоцитов, изначально находящихся в морской воде, постепенно добавлялась дистиллированная вода и клеточная суспензия. При этом концентрация клеток поддерживалась постоянной, а внутриклеточное осмотическое давление возрастало. Объем клеток при этом не изменялся, что свидетельствовало о потере упругих свойств клеточных мембран и гибели гемоцитов. Данный вывод коррелирует с результатами, полученными при анализе жизнестойкости гемоцитов моллюсков методами проточной цитометрии.

Таким образом, благодаря проведённому эксперименту, можно сделать вывод о губительном воздействии фталатов на гемоциты мидий *Mytilus galloprovincialis*, которые являются природными фильтрами.

1. Супрунович А.В., Макаров Ю.Н. Культивируемые беспозвоночные. Пищевые беспозвоночные: мидии, устрицы, гребешки, раки, креветки. Киев: Наукова Думка, 1990.

2. Гаевская А.В. Паразиты, болезни и вредители мидий. Ч. I, II. Севастополь, 2006.

3. Анисимова А.А. Морфофункциональные параметры гемоцитов в оценке физиологического состояния двустворчатых моллюсков // Биология моря, 2013, т. 39, № 6, с. 389-399.

4. Ткачук А.А., Андреева А.Ю., Кладченко Е.С. Влияние продуктов разложения пластика в океане (фталатов) на функциональные показатели черноморской мидии (*Mytilus Galloprovincialis*) // Конференция: Современная гидробиология: глобальные проблемы мирового океана, Севастополь, 28 сентября 2020 года.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ОБЩЕГО БЕЛКА И ГЕМОГЛОБИНА КРОВИ У КРЫСЯТ ОБЛУЧЕННЫХ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

The Effect of Electromagnetic Radiation on the Concentration of Total Protein and Hemoglobin in the Blood of Rats Irradiated in the Prenatal Period

Кулиева А.Т.

Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева НАН Азербайджана, г. Баку, Азербайджан, aqulieva@icloud.com

С каждым годом растут контингенты людей, подвергающихся воздействию электромагнитных излучений (ЭМИ), которые вызывают в организме различные нарушения, в том числе и в пренатальном периоде развития. Различные излучения широко используются в медицине. Используются они, как для диагностических целей при применении аппаратов ультразвуковой диагностики, рентгенологических исследований, спектрального анализа, а также для лечения больных при рентгеновском и гамма-облучении онкологических больных, для физиотерапевтических процедур, УВЧ-терапии, лечения КВЧ-диапазоном. Установлено, что нервная, эндокринная и сердечно-сосудистая системы первыми реагируют на действие электромагнитного излучения. Исходя из этого, необходимо тщательное и всестороннее изучение всех изменений, которые происходят в организме при этих воздействиях. В особенности это относится к системам поддержания гомеостаза, в том числе, и системе крови.

Цель настоящей работы – изучение таких показателей крови, как концентрация общего белка и уровень гемоглобина в крови у потомства крыс после действия электромагнитного облучения на них во время внутриутробного развития.

Исследования проводились на белых крысах линии Вистар, содержащихся в обычных условиях вивария. Беременные крысы облучались ЭМИ 460 МГц на аппарате «Волна-2» в металлической цилиндрической камере. Облучение проводилось ежедневно в течение 20 мин, зародышевый, предплодный и плодный периоды пренатального развития (1-7, 8-17, 17-21 дни беременности) при плотности потока мощности излучения 30 мкВт/см². После рождения исследования проводились на 20- и 30-дневных крысятах. Гемоглобин определяли цианометгемоглобиновым методом. Уровень общего белка определяли по методу Бредфорда (Ю.Б. Филиппович и др. 1982).

Исследования показали, что у 20-дневных крысят, взятых от матерей, подвергшихся облучению в каждом из трех периодов пренатального развития, уровень гемоглобина и общего белка ниже, чем в контрольной группе. Наибольшее снижение наблюдается у крысят, облученных в зародышевый период (гемоглобин: контроль – 4,3±0,4 г%, опыт – 3,34±0,20 г%; общий белок: контроль – 4,2±0,5 мг, опыт – 2,2±0,1 мг). У 30-дневных крысят эти показатели обнаруживают характерные различия для трех периодов внутриутробного облучения. Содержание гемоглобина и общего белка повышено для крысят, облученных во время зародышевого и плодного периодов; наибольший рост наблюдается у крысят после облучения в зародышевом периоде (гемоглобин: контроль – 5,1±0,2 г%, опыт – 5,8±0,3 г%; общий белок: контроль – 4,1±0,6 мг, опыт – 4,5±0,3 мг).

Исследование показало, что крысята, рожденные от матерей, подвергшихся облучению на разных этапах пренатального онтогенеза, имеют более низкие уровни, как гемоглобина, так и общего белка в 20-дневном возрасте.

Анализ динамики показателей крови крыс в постнатальном онтогенезе выявляет гетерохронии в изменении отдельных показателей. Так, после рождения изменения концентрации гемоглобина и общего белка имеют разнонаправленный характер: концентрация общего белка имеет тенденцию только к повышению, а концентрация гемоглобина первоначально снижается и лишь после 20 дней жизни начинает увеличиваться. Таким образом, наблюдается развитие так называемой ранней постнатальной «анемии».

Таким образом, электромагнитное облучение крыс во время беременности способно изменить характер развития биохимии потомства в пренатальном и постнатальном онтогенезе. Общая направленность этих изменений указывает на преобладание процессов торможения развития.

ПОВЕДЕНИЕ ТРИХОПЛАКСА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЕЙСТВИЯ СВЕТА НА ОПСИНЫ В СООТВЕТСТВИИ С ГЛУБИНОЙ ОБИТАНИЯ ЖИВОТНОГО: АНАЛИЗ И МОДЕЛЬНЫЕ ОПЫТЫ

Trichoplax Behavior as a Function of Light Action on Opsins According to Animal Depth: Analysis and Model Experiments

Мамонтов А.А.¹, Хавронюк И.С.¹, Рыбакова К.А.¹, Кузнецов А.В.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, sanyok65@list.ru

² ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Опсины второго класса – это светочувствительные рецепторные белки массой 35-55 кДа. Они состоят из 7 α -спиралей, пронизывающих клеточную мембрану, и образуют канал, внутри которого находится хромофор – молекула ретиналя, совершающая цис- и транс-переходы под действием поглощённых квантов света. Результирующее изменение конформации опсина передаётся на связанные с ним G-белки, которые относятся к ГТФамам и функционируют в качестве вторичных посредников во внутриклеточных сигнальных каскадах вплоть до экспрессии ядерной ДНК [1]. У Плазозоа имеются опсины, имеющие общего предка с рецепторами мелатонина. Считается, что первый опсин возник в результате дупликации общего предка генов мелатонина и этот белок, возможно, не был светочувствительным [2]. В силу того, что геном трихоплакса секвенирован [3], представлялось интересным провести анализ опсинов у этого животного методами биоинформатики и исследовать поведенческие реакции на когерентные источники света.

Методика. Работа на Phyre2-сервере. Построение 3D-моделей опсинов проводилось методом сравнения гомологичных последовательностей с известными пространственными структурами белков на Phyre2-сервере. Оценивались достоверность и степень покрытия исследуемых аминокислотных последовательностей.

Содержание трихоплаксов в лаборатории. В работе использовали *Trichoplax* sp. H2. Животных культивировали на матах одноклеточной зелёной водоросли *Tetraselmis marina* при температуре 24-26°C и естественной освещённости в стеклянных чашках Петри диаметром 90 мм, заполненных 3,5% искусственной морской водой (ASW) со значением pH 7,6-8,2. Каждую неделю осуществляли замену воды. За 30 мин перед началом эксперимента животных промывали 2 раза и отсаживали в ASW на пластиковые чашки без водорослей в темноту [4].

Световые воздействия на трихоплаксов. Использовали твердотельные лазеры разной мощности (лазерные указки) с различными длинами волн, как красный (630-650 нм, 5 мВт), зелёный (532 нм, 1 Вт), фиолетовый (405 нм, 5 мВт), а также ультрафиолетовый и белый направленные источники света. Применяли экспозиции длительностью до 10 мин.

Результаты. Фолдинг опсинов. В геноме трихоплакса *Trichoplax* sp. H2 обнаружены гены 10 опсиноподобных белков, из них 7 аннотированы как чувствительные к разным цветам солнечного спектра, такие как зелёный опсин (RDD36429.1), 4 разных голубых опсина (RDD38730.1, RDD39212.1, RDD42761.1 и RDD46411.1), фиолетовый (RDD38879.1) и УФ-опсин (RDD39214.1). На Phyre2-сервере были построены пространственные модели 4 опсинов (зелёный, RDD36429.1; голубой, RDD42761.1; фиолетовый, RDD38879.1; УФ, RDD39214.1) с 100% достоверностью и покрытием от 70 до 93% аминокислотной последовательности. Полученные структурные модели подтвердили результаты геномной аннотации (рис. 1).

Зелёный, RDD36429.1

Голубой, RDD42761.1

Фиолетовый, RDD38879.1

УФ, RDD39214.1

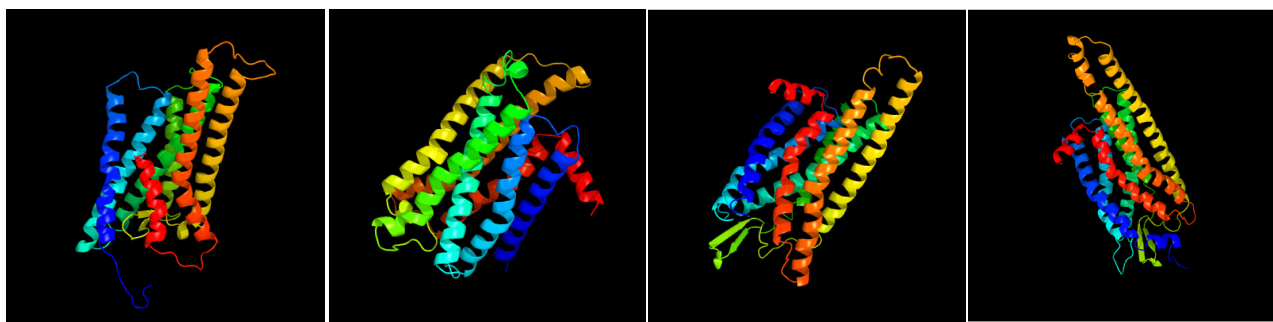


Рисунок 1. 3D-реконструкция опсинов, чувствительных к основным цветам солнечного спектра

Реакция трихоплаксов на свет. Опыты по воздействию света на трихоплаксов проводили в затемнённом помещении. В таких условиях животные хорошо распластывались на пластиковом субстрате и были малоподвижны, что принято нами за состояние «покоя». При освещении подопытных особей пучком света, животные обычно активизировались. Так для УФ-света длительность активации трихоплаксов составляла 81 ± 47 с, для красного света – 84 ± 26 с, а при применении белого света время активации сокращалось до 33 ± 12 с. Зелёный источник света был способен как остановить животное, так и заставить его ползти. При переходе трихоплакса в состояние покоя, край пластинки становился неподвижным и зубчатым как у кленового листа, через некоторое

время прекращалось вихревое движение клеток внутренней части пластинки, а животное походило на безжизненный кристалл, что возможно, играет маскирующую роль. Напротив, при активации, сначала начиналось движение внутренней клеточной массы пластинки, а затем и периферийного ободка. Край пластинки округлялся, изменял кривизну, становился подвижным и животное начинало двигаться поступательно. Реакция трихоплаксов на облучение светом разных длин волн отличалась. Так животные избегали УФ-света, убегали от зелёного света в темноту либо замирали на месте, превращаясь в «льдинку», оставались будучи активными в красном световом пятне и явно избегали белого света.

Обсуждение. Известно, что солнечный свет проникает в воду на разные глубины в зависимости от длины волны излучения и растворённых солей. Так, инфракрасный свет уже почти полностью поглощается поверхностным слоем воды. Красный свет проходит несколько глубже до 1-2 м. Ультрафиолетовый и оранжевый свет распространяются вглубь на 10-20 м, жёлтый до 50 м, фиолетовый и зелёный на глубину более 100 м, а голубой – до 300 м. В силу того, что трихоплакс содержит в своём геноме гены опсинов, продукты которых чувствительны к зелёному, голубому, фиолетовому и УФ-свету, можно предположить, что животное обитает на глубине до 300 м. То, что трихоплакс имеет 4 разных голубых опсина придаёт этой догадке весомость. Полагали, что зелёный опсин необходим трихоплаксу для поиска зелёных одноклеточных водорослей [5]. В таком случае, трихоплакс может жить на глубине до чуть более 100 м. Однако реально вылов животных осуществляется на глубине до 20 м [6].

Полученные результаты по светотаксису у трихоплакса *Trichoplax* sp. H2 несколько расходятся с выводами в статье [5]. В наших условиях трихоплаксы убегали от ультрафиолетового и, в особенности, белого света в темноту, замирали или отползали от зелёного света и оставались будучи активны в красном пучке. Получается, что трихоплаксы обычно предпочитают оставаться в темноте и обладают выраженным отрицательным УФ-таксисом. Зелёный свет может оказывать на трихоплаксов двойное действие в зависимости от фазы приложения, т.к. трихоплаксы демонстрируют квазипериодическое движение и способны спонтанно переходить из активного состояния в состояние покоя и наоборот [7]. Мы полагаем, что направленные движения трихоплакса в УФ и зелёном, а также в белом свете связаны с наличием у него специфических сенсоров – опсинов, чувствительных к УФ и зелёному свету. Напротив, положительный кинезис, т.е. активация движения без направленного перемещения, обусловлен отсутствием гена красного опсина в геноме трихоплакса H2, но объясняется прямой активацией митохондрий с выработкой АТФ под воздействием красного света [8].

1. Terakita A. The opsins // *Genome Biol.*, 2005, vol 6 (3), p. 213.
2. Feuda R., Hamilton S.C., McInerney J.O., Pisani D. Metazoan opsin evolution reveals a simple route to animal vision // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2012, vol. 109 (46), pp. 18868-72.
3. Srivastava M., Begovic E., Chapman J. et al. The *Trichoplax* genome and the nature of placozoans // *Nature*, 2008, vol. 454 (7207), pp. 955-960.
4. Kuznetsov A.V., Halaimova A.V., Ufimtseva M.A., Chelebueva E.S. Blocking a chemical communication between *Trichoplax* organisms leads to their disorderly movement // *International Journal of Parallel, Emergent and Distributed Systems*, 2020, vol. 35 (4), pp. 473-482.
5. Капцов В.А., Дейнего В.Н., Козырицкий Д.В. Rgb-таксис *trichoplax* (placozoa), как новый метод гигиенических исследований // *Медицина труда и экология человека*, 2021, т. 1, с. 6-22.
6. Pearse V.B., Voigt O. Field biology of placozoans (*Trichoplax*): distribution, diversity, biotic interactions // *Integr. Comp. Biol.*, 2007, vol. 47 (5), pp. 677-92.
7. Kuznetsov A.V., Vainer V.I., Volkova Y.M., Kartashov L.E. Motility disorders and disintegration into separate cells of *Trichoplax* sp. H2 in the presence of Zn(2+) ions and L-cysteine molecules: A systems approach // *Biosystems*, 2021, vol. 206, p. 104444.
8. Blanco-Prieto O., Catalán J., Trujillo-Rojas L. et al. Red LED Light Acts on the Mitochondrial Electron Chain of Mammalian Sperm via Light-Time Exposure-Dependent Mechanisms // *Cells*, 2020, vol. 9 (12), p. 2546.

АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ТАЕЖНЫХ ЛЕСООБРАЗОВАТЕЛЕЙ НА ПОБЕРЕЖЬЕ ОНЕЖСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Self-Oscillating Mechanisms of Maintaining Populations of Taiga Forest Growers on the Coast of the Onega Peninsula

Немчинова А.В.

Центр независимых социологических исследований, г. Санкт-Петербург, РФ, nemanvic@rambler.ru

Уникальный механизм автовосстановления лесных сообществ на побережье Онежского полуострова связан с процессами образования береговых валов и формирования их средствами биотической регуляции среды. Исследована и сравнивается динамика популяций: лиственницы на Онежском берегу Онежского п-ва (мыс Лямецкий) [1] и популяции ели на Летнем берегу (мыс Лопшеньгский). На обоих участках береговые валы формируются на аккумулятивных террасах последникового времени [2].

Исследуемые лесообразователи северной тайги, лиственница и ель, имеют разную популяционную стратегию из-за полярной разницы в отношении светолюбия, поэтому механизмы самоподдержания отличаются по ритмике взаимодействия популяций с береговыми формами рельефа и по ходам сукцессии. Общее одно - биота (травянистая растительность и возобновление древесных пород), по мере успешного заселения береговых песчаных дюн и штормовых заплесков, трансформирует среду таким образом, что укрепляет сами геоморфологические формы для успешного, еще большего собственного роста (накопления биомассы) и развития (сукцессии), включая накопление климаторегулирующей компетентности. Пример контура положительной обратной связи - в основе механизма авторегуляционных процессов в лесных сообществах. Обе древесные породы выдерживают воздействие ветра, засыпание морским песком, используют в качестве источника питания детрит из мертвой древесины в валах. Теряя верхушечные побеги из-за сильного ветробоя, разветвляются в раннем возрасте и формируют кустистые биоморфы, чем, наряду с дюнными наносами, создают укрепительные полосы на берегах.

В терминах теории автоколебательных процессов диссипативных динамических систем, закрепление древесных пород на береговых валах можно рассматривать как нелинейный регулятор, преобразующий постоянное воздействие источника возмущений со стороны моря в переменное и запускающий осциллятор - демографическую систему популяции в состояние незатухающих колебаний, фаза и частота которых совпадают с тактом формирования береговых валов. Колебания осциллятора через обратную связь (сеянцы, развитие подроста и кустистых биоморф на валах и проч.) задают фазу и частоту регулятора. Диссипация, в результате фитоценологических взаимодействий, воздействия ветробоя, засыпания песком, гибели сеянцев и отмирания почек на ветвях, и пр., возмещается за счёт поступления в автоколебательную систему энергии из источника постоянного воздействия с моря (деятельность волн, приливы, ветробой, дюнные процессы, штормовые заплески и проч.), благодаря чему автоколебания и популяционные циклы не затухают.

Сопоставление времен образования валов и возрастов деревьев, а также ширины валов и расстояний распространения деревьев в разных онтогенетических состояниях позволили рассчитать: длины демографических волн, периоды их колебаний в сопоставлении с периодами штормовых заплесков, скорости распространения фронтов самораспространяющихся волн онтогенетических циклов. Таким образом, оценены хода сукцессий лиственничника и ельника на побережье, их направления, собственные времена и скорости. Автоколебательный процесс не затухает на границе моря и леса, поскольку через контур обратной связи ель и лиственница запускают сукцессионные процессы, задавая фазу и частоту своих онтогенетических циклов в такт частоте формирования морских береговых валов.

1. Немчинова А.В. Автоколебательный механизм поддержания популяции лиственницы *Larix sibirica Ledeb.* на побережье Онежского полуострова / XXVIII Межд. конф. Математика. Компьютер. Образование. Симпозиум с межд. участ. «Биофизика сложных систем. Вычислительная и системная биология. Молекулярное моделирование». Тезисы, серия МКО 2021, с. 87, место издания <http://www.mce.su/rus/archive/abstracts/mce28/sect288918/doc374609/>

2. Репкина Т.Ю., Беличенко А.Е., Яковлева А.П. Побережье Унской губы Белого моря: взаимодействие рельефа и человека // VIII Шукинские чтения: рельеф и природопользование. Матер. Всерос. конф., МГУ им. Ломоносова, географический факультет, Москва, 2020, с. 735-741.

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПРИ ВОСПРОИЗВЕДЕНИИ НЕВЕСОМОСТИ Evolution Aspects of the Regulation of Sperm Motility under Modelling Weightlessness

Огнева И.В.^{1,2}

¹ Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва, РФ, iogneva@yandex.ru

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, РФ

Появление и развитие жизни на Земле происходили в условиях постоянной действующей силы тяжести, однако ее роль в различных процессах, происходящих в клетке до сих пор остается малоизученной. Данные предыдущих исследований свидетельствуют о том, что у млекопитающих двигательная активность сперматозоидов в условиях реальной или моделируемой микрогравитации снижается [1,2], а у низших животных (морской еж, плодовая муха) – растет [3,4]. При этом, белки аксонемы – структуры хвоста сперматозоида, обеспечивающей его движение, являются, согласно данным BLAST NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), достаточно консервативными. Соответственно, можно предположить, что регуляция активности этих белков может быть различной, например, за счет различного фосфорилирования. У мухи и у мыши в сперматозоидах идентифицированы различные Ser/Thr киназы и фосфатазы. Интересно, что фосфорилирование гистидина широко распространено у прокариот, но практически не встречается у животных. Возможно, редукция в эволюционном процессе этого способа регуляции отражается в том, что у мухи идентифицировано 3 изоформы гистидин-фосфатаз, а у мыши – только одна, причем не вполне ясно, экспрессируется ли она в сперматозоидах.

Мы наблюдали увеличение двигательной активности сперматозоидов *Drosophila melanogaster* после 6-часовой экспозиции в условиях моделируемой с помощью машины случайного позиционирования невесомости. Добавление ингибитора протеинкиназ, 6-диметиламинопурина, после экспозиции не снижало скорость движения, что согласуется с данными, полученными на сперматозоидах морского ежа [3]. Однако, добавление ингибитора тирозинных фосфатаз приводит к полной остановке движения как в контроле, так и после экспозиции в условиях моделируемой микрогравитации, что может свидетельствовать о том, что дефосфорилирование тирозина является абсолютно необходимым условием подвижности в любых условиях. Введение ингибитора Ser/Thr фосфатаз не изменяет скорость движения в контроле, однако нивелирует эффект увеличения скорости после пребывания в моделируемой микрогравитации. Следовательно, можно полагать, что увеличение скорости движения в условиях микрогравитации происходит за счет снижения уровня фосфорилирования Ser/Thr остатков в результате увеличения соответствующей фосфатазной активности. Отсутствие эффекта в контрольной группе позволяет предположить, что эта фосфатазная активность является не конститутивной, а факультативной.

Напротив, у мыши после 6-часовой экспозиции в моделируемой микрогравитации двигательная активность сперматозоидов снижалась. Добавление ингибитора протеинкиназ после экспозиции снижало скорость движения в контроле, но не влияло на скорость движения после моделируемой микрогравитации. Соответственно, можно полагать, что в условиях моделируемой микрогравитации увеличивается фосфорилирование за счет увеличения конститутивной протеинкиназной активности. Причем, вероятно, что это фосфорилирование по Ser/Thr, поскольку ингибирование их дефосфорилирования также приводит к снижению скорости движения в контроле. При этом, дефосфорилирование остатков тирозина, в отличие от *Drosophila melanogaster*, не является необходимым условием подвижности сперматозоидов.

Таким образом, не исключая роли каких-либо других факторов, модулирующих функционирование аксонемных белков в сперматозоидах, можно предположить, что в условиях моделируемой микрогравитации в сперматозоидах мухи инициируется дополнительная Ser/Thr фосфатазная активность, что приводит к снижению уровня фосфорилирования и увеличению скорости движения сперматозоидов. В сперматозоидах мыши в условиях моделируемой микрогравитации увеличивается конститутивная протеинкиназная активность, что приводит к увеличению уровня фосфорилирования и снижению скорости движения сперматозоидов.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН 65.4 и Программой стратегического академического лидерства (Сеченовский Университет).

1. Ikeuchi T., Sasaki S., Umemoto Y. et al. Human sperm motility in a microgravity environment // *Reprod. Med. Biol.*, 2005, vol. 4, pp. 161-168. doi: 10.1111/j.1447-0578.2005.00092.x
2. Ogneva I.V., Usik M.A., Biryukov N.S., Zhadnkina Yu.S. Sperm motility of mice under simulated microgravity and hypergravity // *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21 (14), p. 5054. doi: 10.3390/ijms21145054
3. Tash J.S., Kim S., Schuber M. et al. Fertilization of sea urchin eggs and sperm motility are negatively impacted under low hypergravitational forces significant to space flight // *Biol Reprod*, 2001, vol. 65 (4), pp. 1224-1231. doi: 10.1095/biolreprod65.4.1224
4. Ogneva I.V., Usik M.A., Burtseva M.V. et al. *Drosophila melanogaster* sperm under simulated microgravity and a hypomagnetic field: motility and cell respiration // *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21 (17), p. 5985. doi: 10.3390/ijms21175985

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛЬНЯНОГО МАСЛА МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Determining the Fatty Acid Composition of Flax Oil Using Mass Spectrometry

Повхова Л.В.^{1,2}, Владимирова Г.Н.³, Николаев Е.Н.³, Рожмина Т.А.^{1,4}, Пушкова Е.Н.¹, Новаковский Р.О.¹,
Дворянинова Е.М.^{1,2}, Дмитриев А.А.¹, Мельникова Н.В.¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, РФ, *povhova.lv@phystech.edu*

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
г. Долгопрудный, РФ

³ Сколковский институт науки и технологий, г. Москва, РФ

⁴ Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок, РФ

Для масличных культур определение жирнокислотного состава масла является важнейшей задачей, так как направление его использования напрямую зависит от соотношения жирных кислот. Масло льна (*Linum usitatissimum* L.) используют в пищевой и фармацевтической промышленности, при производстве лаков, красок и композитных материалов. Как правило, оценка жирнокислотного состава масла проводится на поздних этапах селекционного процесса хроматографическим методом, который является дорогим, трудоемким и часто требует значительного числа семян для анализа, что в случае гетерогенных по жирнокислотному составу образцов может привести к неверной интерпретации результатов. Целью нашей работы являлась разработка методики для точного и быстрого анализа жирнокислотного состава льняного масла методом масс-спектрометрии, так как

данный метод высокоспецифичен, чувствителен, и не требует большого количества материала. Для апробации разрабатываемой методики использовали образцы льна с известным жирнокислотным составом масла, предоставленные Институтом льна (г. Торжок).

Экстракцию масла проводили из 0,5-3 семян одного образца в двукратной повторности. В пробирку для гомогенизатора к семенам добавляли по 6 боросиликатных шариков и 400 мкл холодного раствора МЕОН:МТВЕ (1:3, v:v) и гомогенизировали на приборе MagNA Lyser (Roche, Швейцария) при 7000 об/мин в течение 30 сек. После гомогенизации добавляли 400 мкл раствора МЕОН:МТВЕ (1:3, v:v) и встряхивали на вортексе Microspin FV-2400 (BioSan, Латвия). Инкубировали образец 30 мин на термошейкере TS-100 (BioSan) при 4 °С, затем 10 мин гомогенизировали в УЗ бане Elmasonic S10 (ELMA, Германия). После чего перенесли образец в пробирку 1,5 мл, аккуратно, не задевая осадок. Добавляли 560 мкл холодного H₂O:МЕОН (3:1, v:v), встряхивали в течение 1 мин на термошейкере при 4 °С и центрифугировали 10 мин при 14000 об/мин и 4 °С (5418R, Eppendorf, Германия). Отбирали по 200 мкл органической верхней фазы в две пробирки 1,5 мл и высушивали в течение 2 ч на концентраторе Concentrator Plus (Eppendorf) при 30 °С, режим V-HV. Пробирки хранили в низкотемпературном морозильнике при -70 °С.

В пробирку с высушенным липидным экстрактом добавляли 200 мкл смеси МЕОН:6% КОН (4:1, v:v) и встряхивали на вортексе Microspin FV-2400 (BioSan). Инкубировали 2 ч при температуре 60 °С на термошейкере TS-100 (BioSan) со скоростью перемешивания 1400 об/мин. Затем образец охлаждали до комнатной температуры, добавляли 100 мкл насыщенного раствора NaCl и 50 мкл 29% HCl и встряхивали на термошейкере. Центрифугировали 30 сек при 12700 об/мин и 4 °С (5418R, Eppendorf). Добавляли 200 мкл смеси хлороформ:гексан (1:4, v:v) и встряхивали на термошейкере при 4 °С. Центрифугировали 30 сек при 12700 об/мин и 4 °С (5418R, Eppendorf). Собирали 80+80 мкл верхней фазы в пробирку 1,5 мл, снова добавляли 200 мкл смеси хлороформ:гексан (1:4, v:v) и встряхивали на термошейкере при 4 °С. Центрифугировали 30 сек при 12700 об/мин и 4 °С (5418R, Eppendorf). Собирали 100+100 мкл верхней фазы в пробирку 1,5 мл, добавляли 200 мкл UPLC-H₂O и встряхивали на термошейкере при 4 °С. Центрифугировали 30 сек при 12700 об/мин и 4 °С (5418R, Eppendorf). Собирали 150+150 мкл верхней фазы в пробирку 1,5 мл и высушили в течение 40 мин на концентраторе Concentrator Plus (Eppendorf) при 30 °С, режим V-HV.

Для подготовки к масс-спектрометрическому анализу высушенный экстракт разводили в 200 мкл смеси ацетонитрил:изопропанол (7:3, v:v) и инкубировали 10 мин на термошейкере TS-100 (BioSan) при 4 °С. Анализ выполняли на масс-спектрометре ESI-Orbitrap (Thermo Fisher Scientific, США). Использовали метод ионизации электрораспылением. Для льняного масла основными жирными кислотами являются линоленовая (C18:3, m/z – 277,21), линолевая (C18:2, m/z – 279,23) и олеиновая (C18:1, m/z – 281,24), поэтому измерения проводили в диапазоне m/z 270-290. Обработку масс-спектров осуществляли в программе Xcalibur 4.0.

Результаты измерений жирнокислотного состава масла для исследуемых образцов совпали как с данными, полученными нами ранее методом жидкостной хроматографии, так и с данными других исследователей, что подтверждает точность метода. Разработанная методика применима даже для небольшого количества материала: для определения соотношения жирных кислот в образце достаточно половины семени, в то время как вторую половину можно прорастить и использовать для дальнейшей работы, что позволит значительно ускорить процесс селекции сортов масличного льна.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 21-16-00111.

ПАРАМЕТРЫ КРИВОЙ КОАГУЛЯЦИИ ПРИ ЭЛЕКТРОКОАГУЛЯЦИОННОЙ ОЧИСТКЕ ПРИРОДНЫХ ВОД

Parameters of Electrocoagulation Curves for the Electrocoagulation Water Purification

Попова А.А., Беданов Р.А.

Майкопский государственный технологический университет, г. Майкоп, РФ, ang.popova@gmail.com

Проблема чистой воды является глобальной проблемой. Во всем мире наблюдается нехватка чистой воды, пригодной для питья, бытового и промышленного использования. Поэтому высока актуальность поиска эффективных методов водоподготовки и очистки природных вод. Подготовка вод поверхностных и подземных водоемов к бытовому и промышленному использованию предполагает осветление и обесцвечивание воды [1].

Использование метода электрохимической коагуляции позволяет значительно практически нейтрализовать остаточный алюминий в воде, направляемой в муниципальные водоводы, снизить на порядки время коагуляции и вносимые дозы коагулянта, а при модификации коагулирующей смеси и правильном подборе режима электрохимической обработки добиться устранения практически всех загрязняющих веществ.

При коагуляции в свободном объеме введение гранулированного сульфата алюминия в пробу очищаемой воды приводит к постепенному установлению равновесия между катионами Al³⁺ в оболочках мицеллы, образующихся на агрегате Al(OH)₃ в результате гидролиза сульфата алюминия, и противоположно заряженными ионами в частицах загрязняющих веществ [2-4].

Коагуляция описывается нелинейным кинетическим уравнением Смолуховского без учета внешних воздействий на коагулирующий объем и в предположении, что частицы равномерно распределены по объему:

$$\frac{\partial C(g,t)}{\partial t} = S(C, g, t) = F[C] = \frac{1}{2} \int_0^g K(g-n, n) C(g-n, t) C(n, t) dn - C(g, t) \int_0^\infty K(g, n) C(n, t) dn, \quad (1)$$

где $C(g, t)$ – спектр частиц с массой g во времени t ; $K(g, n)$ – ядро коагуляции, или частота парных столкновений частиц с массами g и n в единице объема.

На распределение частиц в двухкомпонентных системах в случае поляризации постоянным электрическим полем пространственно-однородного единичного объема будут влиять, в основном, диффузионные и электрохимические процессы.

Тогда

$$F[C] = F[C]_c + F[C]_d + F[C]_e, \quad (2)$$

где $F[C]_c$ – оператор изменения концентрации в результате коагуляции, $F[C]_d$ и $F[C]_e$ – операторы изменения концентрации в результате диффузии и электрохимического процесса соответственно.

Оператор $F[C]$ определяется фактором коагуляции, вызванным приростом концентрации частиц g за счет столкновения частиц g и g за вычетом коагуляционного фактора, возникающего в результате столкновения g с частицами с массой n [5].

Учитывая диффузионный и электрохимический факторы влияния на $F[C]$ после некоторых преобразований из (1) и (2) получаем:

$$\frac{\partial C(g, t)}{\partial t} = S(C, g, t) = F[C] = \frac{1}{2} \int_0^g K(g-n, n) C(g-n, t) C(n, t) dn - C(g, t) \int_0^\infty K(g, n) C(n, t) dn + C(n, t) \left[\int_0^\infty K(g, n) D_{gn} dn + \int_0^\infty \int_0^\infty K(g, n) \varphi(x) dx dn \right] \quad (3)$$

Спектр частиц, полученный по уравнению (3), соответствует экспериментальной кинетической кривой коагуляции с высоким коэффициентом корреляции.

1. Попова А.А., Попова Т.Б. Исследование коагуляции ГСА с компонентами поверхностных природных вод // Материалы Межд. научной конф. «Повышение эффективности и экологические аспекты использования ресурсов в сельскохозяйственном производстве». Тамбов, 2016, с. 166.

2. Попова А.А. Кинетика коагуляционных процессов // В сб.: XXXV Неделя науки МГТУ. Материалы XXX Межд. научно-практ. конф. «Экологические проблемы современности». Майкоп, 2017, с. 200-202.

3. Беданок Р.А., Попова А.А. О возможности применения электрокоагуляции в очистке природных поверхностных вод // Материалы Межд. научно-практ. конф., посв. 110-летию акад. В.С. Алиева «Инновативные перспективы развития нефтепереработки и нефтехимии». Баку, 2018, с. 15-16.

4. Беданок Р.А., Попова А.А. Электрокоагуляция в присутствии полиоксихлорида алюминия, модифицированного полимерными композиционными материалами // В сб.: XXXVI Неделя науки МГТУ. Материалы XXXII Межд. научно-практ. конф. «Экологические проблемы современности». Майкоп, 2018, с. 176-178.

5. Попова А.А., Беданок Р.А. О кинетике электрокоагуляционной очистки природных вод // Материалы XV Межд. научной конф. «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2020». Севастополь, 2020, с. 188.

КОАГУЛЯЦИОННАЯ ОЧИСТКА ПРИРОДНЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД В ПРИСУТСТВИИ ПОЛЯРИЗАЦИИ

Coagulation Treatment of Natural Surface Waters in the Presence of Polarization

Попова А.А., Беданок Р.А.

Майкопский государственный технологический университет, г. Майкоп, РФ, ang.popova@gmail.com

Согласно критериям качества воды первой и высшей категории должны быть абсолютно безопасными в химическом и микробиологическом смысле и сохранять свои характеристики в течение всего времени, пока возможно их использование, хранение и транспортировка. Уровень водородного показателя такой воды должен быть в пределах 7-8, в водах не должно быть органических веществ (показатель химического потребления кислорода равен нулю), жестко нормированы концентрации основных ионов и микропримесей.

Коагуляция представляет собой процесс укрупнения частиц в агрегаты за счет слипания с образованием макрофазы, в которой факторы агрегативной и седиментационной неустойчивости приводят к интенсивному образованию хлопьевидного осадка [1].

Коагуляция может происходить как в слое гранулированного сульфата алюминия (контактная коагуляция), так и в свободном объеме (коагуляция свободного объема). Следствием контактной коагуляции является снижение агрегативной устойчивости загрязняющих коллоидных примесей воды и их адсорбция на поверхности частиц коагулянта. При коагуляции в свободном объеме введение гранулированного сульфата алюминия в пробу очищаемой воды приводит к постепенному установлению равновесия между катионами Al^{3+} в оболочках мицеллы, образующихся на агрегате $Al(OH)_3$ в результате гидролиза сульфата алюминия, и противоположно

заряженными ионами в частицах загрязняющих веществ. На полноту гидролиза влияют водородный показатель, температура ионный состав среды, концентрация активных ядер коагуляции, наличие конвекции [2].

Проведение коагуляции под воздействием контура поляризации позволяет значительно снизить расход коагулянта, практически нейтрализовать остаточный алюминий в воде, направляемой в муниципальные водоводы, снизить на порядки время коагуляции и добиться количественного устранения загрязняющих веществ, не дистиллируя воду, что значительно повышает ее качество.

На процесс электрокоагуляции влияют материал электродов и расстояние между ними, скорость движения воды, ее температура и состав, режим электролиза.

В результате исследования влияния концентрации гранулированного сульфата алюминия (ГСА) и полиоксихлорида алюминия (ОХА) на эффективность коагуляционной очистки природных вод бассейна р. Белой с использованием оптических, химических и электрохимических методов установлено, что оптическая плотность проб природной воды быстро снижается во времени и с 6-10 минуты выходит на постоянное значение, которое не меняется до полной коагуляции природных загрязняющих веществ [3].

Максимальной мутностью характеризуются весенние воды, наименьшая мутность в осенних и зимних пробах всех исследованных рек.

Время половинной седиментации во всех сезонных водах меньше 4-5 мин, что свидетельствует о том, что мутность всех вод обеспечивают схожие породы минералов и структуры гуматов. С этим выводом согласовываются данные батометрических измерений.

Анализ зависимости эффективности электрокоагуляции от концентрации гуматов, определяющих мутность и цветность природных вод, показал, что с увеличением доли продукта в очищаемой системе эффективность электрохимического процесса анодного растворения электрода падает, что связано с пассивацией поверхности электродов гидрофобными частицами оседающего продукта. В то же время, несмотря на снижение во времени количества образующегося в единицу времени гидроксида, относительное количество захваченного им органического материала растет.

Осветление воды, содержащей взвеси гуминовых веществ, при добавлении коагулянтов происходит, по-видимому, в результате взаимной коагуляции коллоидов, частицы которых заряжены противоположно. Об этом свидетельствует снижение ζ -потенциала частицы при добавлении коагулянта [4].

1. Беданов Р.А., Попова А.А. Электрокоагуляционная очистка природных вод новыми коагуляционными композициями / В кн.: Актуальные проблемы современной химии, 2019, с. 270.

2. Беданов Р.А., Попова А.А. Электрокоагуляция в присутствии полиоксихлорида алюминия, модифицированного полимерными композиционными материалами // Материалы XXXVI Недели науки МГТУ XXXII Международная научно-практ. конф. «Экологические проблемы современности». Майкоп, 2018, с. 176-178.

3. Попова А.А., Беданов Р.А. Кинетические закономерности электрокоагуляции при очистке природных вод в присутствии гуминовых веществ / Мат. VII Всерос. научной конф. с межд. участием «Гуминовые вещества в биосфере». Москва, 2018, с. 101-102.

4. Попова А.А., Беданов Р.А. О расчете кривой электрокоагуляционной очистки природных вод // Материалы XV Межд. научной конф. «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2020». Севастополь, 2020, с. 187.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ГЕПАТОПАНКРЕАСА МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Effect of Polychlorinated Biphenyls on Hepatopancreas Biochemical Parameters of Mussel *Mytilus galloprovincialis*

Скуратовская Е.Н.¹, Сербин А.Д.², Полевой Д.М.³

¹Институт биологии южных морей имени А.О.Ковалевского РАН, г. Севастополь, РФ, skuratovskaya@ibss-ras.ru

²Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

³Крымский федеральный университет, г. Симферополь, РФ

В последние десятилетия при экотоксикологических исследованиях повышенное внимание уделяется полихлорированным бифенилам (ПХБ) – одной из самых распространенных групп стойких органических загрязнителей, относящихся к классу хлорорганических соединений. Обладая высокой липофильностью и стойкостью к действию физических и химических факторов, ПХБ способны к биоаккумуляции и накоплению по трофическим цепям [1]. В водных объектах первичным накопителем ПХБ служат донные отложения, из которых они передаются бентосным беспозвоночным, затем бентосоядным и хищным рыбам. В течение нескольких десятилетий ПХБ во всем мире, в том числе в странах причерноморского региона, экстенсивно использовались как диэлектрики, теплоносители, добавки к клеям, маслам, лакам и др. В 1980-1990-х годах загрязненность черноморской акватории Крыма была настолько высока, что ПХБ обнаруживались во всех без исключения ее компонентах: планктоне, водорослях-макрофитах, моллюсках, рыбе и донных осадках [2]. Установлено, что ПХБ

даже в крайне малых дозах вызывают изменение физиолого-биохимических процессов в тканях гидробионтов, оказывают токсическое, мутагенное и канцерогенное действие [1, 2].

В настоящей работе в эксперименте исследовано влияние ПХБ на некоторые биохимические параметры гепатопанкреаса черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis*.

Моллюсков собирали в летний период 2020 г. с коллекторов мидийно-устричной фермы в акватории бухты Карантинная (г. Севастополь). Размер моллюсков варьировал от 50 до 60 мм. Мидий акклиматизировали к лабораторным условиям в течение 7 дней в аквариумах с очищенной водой, постоянной аэрацией при температуре 20°C. Животных содержали в аквариумах из расчета 5 л на одну особь. Ежедневно до эксперимента осуществлялась частичная смена воды. Кормление мидий не производилось, чтобы избежать специфического действия пищи. В аквариумы объемом 40 л добавили раствор смеси ПХБ (Ароклор 1254, Supelco, США). Учитывая высокую устойчивость мидий к химическому загрязнению, для обнаружения биохимического отклика в эксперименте использовали широкий диапазон концентраций ПХБ. Воздействующая на мидий концентрация ПХБ в воде аквариумов соответствовала 1 мкг/л (1 ПДК), 100 мкг/л (100 ПДК) и 1000 мкг/л (1000 ПДК). Продолжительность эксперимента составила 5 суток. Отбор экспериментальных животных осуществлялся на 3-е и 5-е сутки. Эксперименты проводили в двух повторностях. В результате экспериментов анализировали следующие биохимические параметры: уровень окислительной модификации белков (ОМБ) и перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность антиоксидантных (АО) ферментов (супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ)), аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ)), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), холинэстеразы (ХЭ).

Результаты эксперимента позволили установить, что черноморская мидия обладает токсикорезистентностью к высоким концентрациям ПХБ. В течение всего эксперимента выживаемость животных составляла 100%. В то же время различные концентрации ПХБ вызвали изменения биохимических показателей в гепатопанкреасе моллюсков: развитие окислительного стресса путем интенсификации процессов окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов, активацию отдельных звеньев антиоксидантной ферментативной системы посредством повышения активности СОД - ключевого фермента ОА защиты. Высокие концентрации ПХБ (1000 мкг/л) ингибировали активность АСТ, ГГТ, вызывая нарушение процессов белкового метаболизма. При всех концентрациях ПХБ отмечалось ингибирование активности ХЭ, что может свидетельствовать о нарушениях в работе холинэргической системы.

Работы выполнены в рамках темы Государственного задания ФИЦ ИнБЮМ № 121030100028-0, при поддержке РФФИ и г. Севастополя в рамках научного проекта № 18-34-50005 («Наставник»).

1. Голованова И.Л., Кузьмина В.В., Чуйко Г.М. и др. Влияние полихлорированных бифенилов на активность протеиназ и карбогидраз в кишечнике молоди плотвы *Rutilus rutilus* (L.) // Биология внутренних вод, 2011, № 2, с. 97-103.

2. Малахова Л.В., Скуратовская Е.Н., Малахова Т.В., Лобко В.В. Связь интегрального биохимического индекса и содержания хлороорганических ксенобиотиков в печени морского ерша *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 в севастопольской морской акватории // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология, 2020, т. 13, № 4, с. 387-409. doi: 10.17516/1997-1389-0335

КИСЛОРОДНЫЕ РЕЖИМЫ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КЕФАЛИ-СИНГИЛЯ В ТЕЧЕНИЕ ГОДОВОГО ЦИКЛА

Oxygen Regimes of the Skeletal Muscles of the Golden Mullet during the Annual Cycle

Солдатов А.А.^{1,2}

¹ ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ, alekssoldatov@yandex.ru

² Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ

Годовой цикл у рыб распадается на ряд периодов, которые отражают определенные, устойчивые во времени, состояния животных: нерест, нагул, зимовка, различные виды миграций. Изучению влияния этих состояний на кислородный режим мышечной ткани кефали-сингиля и посвящены настоящие исследования.

В осенне-зимний период отмечали достоверное снижение напряжения кислорода в крови данного вида. Среднекапиллярное напряжение кислорода (P_cO_2) уменьшалось на 6,4 % ($p < 0,05$) (лето→зима). Наиболее выраженные изменения происходили в венозной крови. Напряжение кислорода в ней (P_vO_2) понижалось на 10,3 % ($p < 0,05$) (лето→зима). В артериальной крови существенных изменений не наблюдали.

Изменения в скелетных мышцах были прямо противоположны. Напряжение кислорода достигало минимального уровня в весенне-летний период. В сравнении с зимним периодом различия составляли для красных мышц (P_rO_2) – 20,8 % ($p < 0,05$), для белых (P_wO_2) – 25,2 % ($p < 0,001$). Максимум в распределении напряжений кислорода смещался влево на 6 гПа (красные мышцы) и 2 гПа (белые мышцы). В мышечной ткани возрастало число гипоксических зон (менее 8 гПа). Летом в белых мышцах их было на 25,7 % больше. В красных мышцах изменения были более значительны. Число гипоксических зон увеличивалось в 3 раза. На основании

значений среднекапиллярного и среднемышечного напряжений кислорода (P_cO_2 , P_mO_2) был рассчитан гистогематический градиент ($P_{c-m}O_2$). В весенне-летний период значения его были на 9,4 % ($p < 0,01$) выше. Это означает, что диффузия кислорода в скелетных мышцах в данный период годового цикла носила более сложный характер.

Максимальная концентрация кислорода в крови кефали-сингиля была обнаружена в зимний период, а минимальная – в летний. Различия составляли около 30 % ($p < 0,001$) и затрагивали как артериальную (C_aO_2), так и венозную (C_vO_2) кровь.

Для данного вида было характерно значительное изменение скорости объемного кровотока в скелетных мышцах в течение годового цикла. Летом она была существенно выше. Различия для красных мышц (Q_r) составляли 2,0 раза, для белых (Q_w) – 2,6 раза ($p < 0,001$). Одновременно повышалась скорость массопереноса кислорода артериальной и венозной кровью на 60-65 % ($p < 0,001$) и скорость утилизации его мышечной тканью (V_mO_2) на 47,9 % ($p < 0,001$). Следует отметить, что утилизация кислорода скелетными мышцами в летний период была малоэффективна. Это нашло отражение в увеличении значений гемодинамического эквивалента на 57,3 % ($p < 0,001$) и снижении процента утилизации кислорода на 12,5 %. В последнем случае различия не были статистически значимы.

Диффузионные характеристики мышечной ткани кефали-сингиля имели минимальные значения в зимний период, а максимальные – в летний. Это нашло отражение в увеличении плотности капиллярной сети на 12,2 % (красные мышцы) и 31,3 % (белые мышцы) ($p < 0,001$) и снижение толщины диффузионного слоя. Радиус Круга (R_K) уменьшался на 5,6 и 12,7 % ($p < 0,001$) соответственно в красных и белых мышцах. Число капилляров на одно мышечное волокно (индекс N_c/N_f) повышалось в летний период на 21,9 % ($p < 0,01$) в красной мышечной ткани и на 43,9% ($p < 0,001$) в белой мышечной ткани. Диффузионная способность скелетных мышц (D_mO_2) увеличивалась при этом на 28,1 % ($p < 0,001$).

Изменение химического состава мышечной ткани, определяющего ее химические характеристики, имело иную сезонную динамику. Минимальные концентрации липидов были отмечены в весенний период, а максимальные в осенний. Различия для красных мышц составляли 34,6 % ($p < 0,05$), для белых – 71,6 % ($p < 0,001$). Весной отмечено также снижение уровня миоглобина в красных мышцах. В сравнении с зимним периодом падение составило 20,4 % ($p < 0,001$). Изменение содержания воды в мышечной ткани было прямо противоположно. В весенний период оводненность красных мышц была на 7,8 % ($p < 0,05$), а белых – на 11,0 % ($p < 0,01$) выше. Наличие различий в химическом составе мышечной ткани в весенний и осенний периоды годового цикла должны были накладывать отпечаток на ее диффузионную способность. Расчет D_mO_2 показал, что при равных скоростях утилизации кислорода значения данного показателя весной были на 14,5 % ($p < 0,01$) ниже.

Таким образом, кислородные режимы скелетных мышц кефали-сингиля в течение годового цикла претерпевали закономерные изменения. Естественная динамика температуры определяла плотность функционирующих капилляров, эффективность капилляризации мышечной ткани, толщину диффузионного слоя. В летний период значения показателей были максимальны, а в зимний минимальны. Это оказывало влияние на величины объемного кровотока и напряжение кислорода в скелетных мышцах. Диффузионная способность мышечной ткани зависела также от содержания в ней воды, липидов и миоглобина.

Работа выполнена в рамках государственной программы 121041400077-1 и при частичной поддержке проекта РФФИ 20-44-920001.

ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА РАЗЛИЧНЫХ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НА ПРОРАЩИВАНИЕ СЕМЯН В ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ МАШИНЕ

**Influence of Ecologically Pure Aqueous Solutions of Hydrogen Peroxide of Various Low Concentrations
on Seed Germination in an Intelligent Machine**

Стребков Д.С.¹, Будник М.И.², Апашева Л.М.², Лобанов А.В.², Овчаренко Е.Н.², Розанцев М.В.³,
Турбин В.В.³

¹ Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ, г. Москва, РФ, nauka-ds@mail.ru

² Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.Семенова, г. Москва, РФ, ziraf@mail.ru

³ НПО «Экопероксид водорода», Московская область, РФ, info@ecoperoksid.ru

Пероксид водорода постоянно и повсеместно присутствует в биосфере Земли с концентрацией от единиц до десятков мкмоль/л и поэтому играет не менее важную роль в жизнедеятельности растений, чем вода [1].

Однако широкое применение пероксида водорода в растениеводстве сдерживается отсутствием технологии производства экологически чистого пероксида водорода природной концентрации.

В настоящее время для получения пероксида (перекиси) водорода используют электрохимический метод через надсерную кислоту и органический метод жидкофазного окисления изопропилового спирта согласно ГОСТ 177-88 «Водорода перекись. Технические условия». При этом получаемый высококонцентрированный раствор

H₂O₂ содержит токсические стабилизаторы (серную кислоту, мышьяк и др.), добавляемые для замедления разложения пероксида водорода, которые не позволяют использовать его в растениеводстве.

Для получения экологически чистого водного раствора пероксида водорода (далее – экопероксид) низкой концентрации без каких-либо химических стабилизирующих добавок авторским коллективом созданы природоподобный способ и установка, заключающиеся в высокоэнергетическом бесконтактном воздействии на дистиллированную воду стримерами высоковольтного электрического разряда [2], в результате чего достигалась концентрация пероксида водорода $1,1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Изучалось влияние различных низких концентраций экопероксида на проращивание семян в двух идентичных интеллектуальных машинах (далее – машин) соответственно для опытной и контрольной групп.

В качестве тест-объектов использовали семена следующих культур: огурца сорта «Конкурент»; редиса сорта «Жара»; кукурузы сорта «Утренняя песня». Семена для опытных и контрольных групп брались соответственно из одной партии в максимально одинаковом соотношении по массе и/или поштучно.

В контрольной группе семена проращивала с использованием дистиллированной воды, а в опытной группе – экопероксида различной концентрации. Исходный экопероксид разводился дистиллированной водой до концентрации $3,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с последующим 10 и 100 кратным разведением соответственно до $3,5 \cdot 10^{-5}$ и $3,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л.

Было проведено три серии экспериментальных исследований со следующими концентрациями экопероксида в опытных группах: I серия – $3,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, II серия – $3,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, III серия – $3,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л.

Тест-объекты располагались на круглых сетчатых дисках внутри машины на марле. В поддон машин заливали по 0,8 л жидкости: в опытной группе – экопероксид соответствующей концентрацией, в контрольной группе – дистиллированную воду. Машины накрывались черной тканью для парников. Режим работы машин: температурный режим нагрева жидкости в поддоне – +25°C, машины включались один раз в сутки в дневное время на 6 часов в течение 3 суток; семена орошались сверху в течение 25 секунд через каждые 20 минут в стандартных условиях.

В результате экспериментальных исследований установлено следующее:

I серия – в опытной группе экопероксид с концентрацией $3,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л оказывал неблагоприятное действие на рост и развитие семян всех культур по сравнению с контрольной группой;

II серия – в опытной группе экопероксид с концентрацией $3,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л значительно стимулировал рост и развитие семян всех культур по сравнению с контрольной группой, при этом прирост массы семян носил индивидуальный характер в зависимости от культуры и составил для огурца сорта «Конкурент» – 220%; редиса сорта «Жара» – 160%; кукурузы сорта «Утренняя песня» – 110%, при этом концентрация экопероксида соответствовала концентрации H₂O₂ в «грозовом дожде» для Московского региона [3].

III серия – различий в росте и развитии семян всех культур между опытной и контрольной группами не наблюдалось, при этом концентрация экопероксида составила $3,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л.

1. Комиссаров Г.Г. Фотосинтез: физико-химический подход. М.: Едиториал УРСС, 2003, 223 с.

2. Стребков Д.С., Будник М.И., Апашева Л.М. и др. Способ и устройство получения экологически чистого раствора пероксида водорода из воды. Заявка на изобретение № РСТ/RU2020/000364.

3. Позин М.Е. Перекись водорода и перекисные соединения. Л., М.: ГХИ, 1951, 31 с.

ПОВЕДЕНЧЕСКИЙ РИТМ *TRICHOPLAX* SP. N2: РЕАКЦИИ НА СВЕТОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИНЫ ВОЛНЫ.

Behaviour Rhythm of *Trichoplax* sp. N2: Reactions on Light Radiation of Different Wavelength

Хавронюк И.С.¹, Воронин Д.П.¹, Кузнецов А.В.²

¹ Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, РФ, havronuk.1994@gmail.com

² ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ

Многие исследователи, работающие с трихоплаксом (Placozoa), помимо отсутствия прямого движения животных к "цели" при хемотаксисе [1] отмечали квазипериодичные паузы в движении, которые связывали с кормлением [2]. Было показано, что морфиноподобные пептиды останавливают биение ресничек, имитируя естественные паузы в кормлении [3], однако подобные остановки трихоплаксов наблюдаются и в пластиковых чашках Петри при отсутствии пищи [4]. В настоящий момент движение трихоплаксов принято называть "стохастическим хемотаксисом" [5], что на наш взгляд не совсем уместно, т.к. не раскрывает суть коллективного движения клеток, из которых состоит это примитивное многоклеточное животное [6; 7; 8]. В целом, трихоплаксы более активны на свету, чем в темноте [9], что позволяет высказать гипотезу о фазах кратковременного "бодрствования" и "сна" в жизни трихоплакса, подобно циркадному ритму у гидры *Hydra vulgaris* [10].

Объектом нашего исследования был *Trichoplax* sp. N2. Животных содержали в лаборатории и подготавливали к эксперименту как описано в [8] с единственным отличием в том, что непосредственно перед экспериментом трихоплаксов оставляли в темноте. Наблюдение проводилось в тёмном помещении без внешних воздействий за исключением попыток влияния на фазу активности трихоплакса с помощью лазерного излучения.

В качестве монохромных источников света использовали лазерные указки с разными длинами волн, как красный (630-650 нм, 5 мВт), зелёный (532 нм, 1 Вт), фиолетовый (405 нм, 5 мВт), а также ультрафиолетовый и белый источники света.

При длительном наблюдении за трихоплаксами под микроскопом Stemi 305 (Германия) в режиме освещения тусклым белым светодиодом была выявлена естественная квазипериодичность состояний *Trichoplax* sp. H2, обозначенная как "подвижный" и "неподвижный" объект (Таб. 1). Активное состояние определялось по следующим признакам: 1) отчётливое движение клеток возле центра масс животного, 2) изменение формы пластинки, 3) поступательное движение трихоплакса. Неактивных особей идентифицировали по отсутствию всех этих признаков; кроме того, край неподвижных особей имел зубчики как у кленового листа. В Таблице 1 заметна цикличность состояний «неподвижный» и «подвижный». Животное то активизировалось, то наоборот замедлялось до полной остановки. После 24-й минуты на животное оказывали световое воздействие, но при этом до конца опыта переход в неактивное состояние не наблюдался.

Таблица 1. Естественная квазипериодичность состояний трихоплакса и «невосприимчивость» к световым воздействиям

Шаг	Время наблюдения (мин)	Состояние	Длительность состояния (мин)	Воздействие
1	6	неподвижный	-	отсутствует
2	10	подвижный	4	отсутствует
3	14	неподвижный	4	отсутствует
4	19	подвижный	5	отсутствует
5	20	неподвижный	1	отсутствует
6	24	подвижный	4	отсутствует
7	40	подвижный	-	зелёный свет
8	51	подвижный	-	красный свет

Активные трихоплаксы демонстрировали типичную амёба-подобную форму с гладкими подвижными краями и мобильной клеточной массой внутри пластинки. Напротив, неподвижные особи были похожи на безжизненные кристаллы льда с острыми краями, что позволило нам использовать рабочий термин "замороженное состояние" трихоплакса. Интересно то, что в части случаев животные не реагировали на лазерное облучение (таб. 1), а в другой части случаев отвечали на воздействие, что выглядело как синхронизация с естественным биоритмом особи, но было интерпретировано в работе [11] как внешнее управление трихоплаксом. Общим остаётся то, что при воздействии зелёным лазером (532 нм, 1 Вт) удаётся перевести *Trichoplax* sp. H2 в неактивное состояние.

Таблица 2. Интенсивность ответной реакции *Trichoplax* sp. H2 на световое излучение различной длины волны

Источник света	УФ (365 нм)	Фиолетовый (405 нм)	Зелёный (522 нм)	Красный (650 нм)
Реакция животного	+++	++	+	-

Показано, что *Trichoplax* sp. H2 кодирует 10 опсинов, большинство из них воспринимает “коротковолновое” излучение – от УФ до синего. Так, УФ-источник и фиолетовый лазер оказывали наиболее выраженный эффект на трихоплаксов (таб. 2). Напротив, чувствительных к красному свету опсинов в геноме трихоплакса не обнаружено, возможно, поэтому отсутствует сенсорный механизм для восприятия красного света и не наблюдается явный таксис к красному свету. Восприимчивый к зелёному свету опсин (RDD36429.1) существует, однако эффект от воздействия лучей зелёного спектра неоднозначен. Эксперименты показали, что воздействие зелёным лазером может способствовать как переходу в активное, так и в неактивное состояние. Можно сказать, что зелёный свет оказывает действие в рамках циклов между активным и неактивными состояниями трихоплакса, как некоторое ускорение таких переходов. Животное «засыпает» в период снижения собственной активности и наоборот «просыпается» быстрее, находясь в фазе увеличения активности, что возможно, объясняет короткий период колебаний в статье [11].

Проведённые исследования не оставляют сомнений в том, что для трихоплакса характерны более или менее активные состояния, периодичность которых косвенно обнаруживается в опытах с разными световыми воздействиями. Данная работа не раскрывает механизмов формирования таких состояний, однако характеризует их, а подобное описание может оказаться полезным в иных лабораторных исследованиях, связанных с поведением трихоплакса. Не определив исходное состояние животного, невозможно правильно описать его

реакцию, а небольшая выборка образцов часто даёт противоречивые результаты эксперимента. Гипотеза о "сне и бодрствовании" позволяет объяснить некоторые «странные» эффекты, такие как, например, альтернативные реакции на действие зелёного излучения.

1. Romanova D.Y., Heyland A., Sohn D. et al. Glycine as a signaling molecule and chemoattractant in Trichoplax (Placozoa): insights into the early evolution of neurotransmitters // *Neuroreport*, 2020, vol. 31 (6), pp. 490-497. doi: 10.1097/WNR.0000000000001436
2. Smith C.L., Pivovarova N., Reese T.S. Coordinated Feeding Behavior in Trichoplax, an Animal without Synapses // *PLoS One*, 2015, vol. 10 (9), p. e0136098. doi: 10.1371/journal.pone.0136098
3. Senatore A., Reese T.S., Smith C.L. Neuropeptidergic integration of behavior in 11. Trichoplax adhaerens, an animal without synapses // *J. Exp. Biol.*, 2017, vol. 220 (Pt 18), pp. 3381-3390. doi: 10.1242/jeb.162396
4. Kuznetsov A.V., Vainer V.I., Volkova Y.M., Kartashov L.E. Motility disorders and disintegration into separate cells of Trichoplax sp. H2 in the presence of Zn(2+) ions and L-cysteine molecules: A systems approach // *Biosystems*, 2021, vol. 206, p. 104444.
5. Smith C.L., Reese T.S., Govezensky T., Barrio R.A. Coherent directed movement toward food modeled in Trichoplax, a ciliated animal lacking a nervous system // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2019, vol. 116 (18), pp. 8901-8908. doi: 10.1073/pnas.1815655116
6. Davidescu M.R., Couzin I.D. Transient Leadership and Collective Cell Movement in Early Diverged Multicellular Animals // *arXiv*, 2014, 1407.0972.
7. Colizzi E.S., Vroomans R.M., Merks R.M. Evolution of multicellularity by collective integration of spatial information // *Elife*, 2020, vol. 9, p. e56349. doi: 10.7554/eLife.56349
8. Kuznetsov A.V., Halaimova A.V., Ufimtseva M.A., Chelebueva E.S. Blocking a chemical communication between Trichoplax organisms leads to their disorderly movement // *International Journal of Parallel, Emergent and Distributed Systems*, 2020, vol. 35 (4), pp. 473-482.
9. Heyland A., Croll R., Goodall S. et al. Trichoplax adhaerens, an enigmatic basal metazoan with potential // *Methods Mol. Biol.*, 2014, vol. 1128, pp. 45-61. doi: 10.1007/978-1-62703-974-1_4
10. Kanaya H.J., Park S., Kim J.H. et al. A sleep-like state in Hydra unravels conserved sleep mechanisms during the evolutionary development of the central nervous system // *Sci. Adv.*, 2020, vol. 6 (41), p. eabb9415. doi: 10.1126/sciadv.abb9415
11. Капцов В.А., Дейнего В.Н., Козырицкий Д.В. Rgb-таксис trichoplax (placozoa), как новый метод гигиенических исследований // *Медицина труда и экология человека*, 2021, т. 16 с. 6-22.

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абакумов М.А.	116	Батова А.С.	55
Аббаслы Р.М.	56, 70	Башлов В.	44
Аббасова М.Т.	202	Беданокоев Р.А.	221, 222
Абдинова А.А.	54	Бедерина Е.Л.	168
Агаева Г.А.	18, 19	Белик А.Ю.	164
Агаева Л.Н.	54, 56	Беликов Н.Е.	98
Агаева У.Т.	18	Беловолов М.М.	22
Ажищева М.В.	104	Беловолова Л.В.	22
Акберова Н.И.	69	Белослудцев К.Н.	99
Акинина М.Д.	93	Белослудцева Н.В.	99
Аксенова Н.А.	94, 173	Белотелов А.Б.	100
Аксенова С.В.	55	Бельская Л.В.	101
Алиев А.Д.	66	Бениаминов А.Д.	46, 185
Алиев Р.Э.	59	Беспалова С.В.	205
Аль-Альвани А.Ж.	68	Бирулина Ю.Г.	102, 169
Амиров А.А.	95	Благова А.В.	103
Ананян А.А.	145	Богачева Е.А.	104
Ананян М.А.	95	Богданова Л.Р.	105
Андреева А.А.	56	Бокерия Л.А.	105
Антал Т.К.	90	Бондарь В.С.	162
Антипова В.Н.	95	Боровков А.Б.	138
Антипова К.Г.	193	Братова А.В.	111
Антонов В.Г.	143, 144	Брацун Д.А.	73
Апашева Л.М.	20, 203, 225	Брильков А.В.	58, 107
Ариповский А.В.	136	Брилькова Е.В.	58
Артюхов В.Г.	149, 169, 192	Бугай А.Н.	55, 61
Архипова А.А.	96	Будник М.И.	203, 225
Аскарлова К.З.	147	Буйко Е.Е.	102
Атакишиева С.А.	25	Букагин А.С.	97
Ахмедов Н.А.	54, 56, 70	Булдаков М.А.	122
Ахмедов Н.Ф.	54	Булков В.А.	206
Ахмедова С.Р.	54	Бурдаков В.С.	97, 106, 128, 137
Бабенкова И.В.	178, 179	Бурлаков А.Б.	107
Бабичева В.И.	123	Бурункова Ю.Э.	23
Бабков Л.М.	57, 87, 156	Буткимбаев С.Е.	130
Багрова О.Е.	21	Буюклян Ю.А.	139
Бадеев В.А.	105	Вакуленко М.Ю.	141
Бадюлина В.И.	143, 144	Варфоломеев С.Д.	98
Баймурзина З.Д.	142	Варфоломеева Е.Ю.	186, 187
Байрамова С.Д.	213	Васильева С.В.	177
Байрамуков В.Ю.	97	Васильева Т.И.	109
Бакланова М.В.	118	Вдовин В.А.	157
Балакин Г.Ю.	112	Везо О.С.	150
Балашов Е.М.	118	Велиева Л.И.	59
Балобанов В.А.	139	Верлов Н.А.	106, 108, 128, 137
Баран Л.В.	126	Винник Д.А.	109
Баран Я.	57	Владимиров Г.Н.	220
Баранов Д.С.	120	Власова И.И.	129
Баранова О.А.	129	Внуков В.В.	145
Баранчиков А.Е.	128	Вознесенский В.И.	188
Барцев С.И.	204	Волков В.В.	110
Бастаков В.А.	21	Волницкий А.В.	106
Батищев О.В.	119	Воронин Д.П.	24, 226

Вукоманович М.	148	Гусев А.А.	129
Гагаринский Е.Л.	31	Гусева И.Е.	62, 182
Гаджи А.В.	35	Давыдова Н.А.	57
Гаевский В.Н.	174	Дадашева С.Б.	32
Гайдабура Е.А.	111	Далидчик Ф.И.	118
Гайкович К.П.	105	Даллакян Г.А.	209
Ганиева Р.А.	25	Дворянинова Е.М.	220
Ганусов В.В.	58	Дегерменджи А.Г.	204, 211
Гапеев А.Б.	112, 176	Дегерменджи Н.Н.	204, 211, 212
Гараева Л.А.	106	Дегтяр И.В.	138
Гарамян Б.Г.	113	Дейнего В.Н.	71
Гармаза Ю.М.	175, 176	Демина О.В.	98
Гарсия Рейес Р.С.	152	Демкин В.П.	64, 93, 124, 163, 172, 194
Гасанов Р.А.	25	Дениева З.Г.	119
Гасанова А.Е.	25	Джалалян Л.А.	42
Геворгиз Р.Г.	26, 27, 32, 60	Дигурова И.И.	209
Генералов Е.А.	152	Дмитриев А.А.	220
Герасимова Ю.В.	184, 201	Дмитриев А.С.	20
Гладкова Н.Д.	168	Долтмурзиева Н.С.	145
Глебов А.А.	61	Доминова И.Н.	36
Глинская Е.В.	68	Дрозденко Т.В.	90
Глухов А.И.	189	Дубовик А.С.	198
Глуховской Е.Г.	68	Дуденкова В.В.	131
Глушков М.В.	22	Душанов Э.Б.	55
Глушченков В.А.	109	Дюкина А.Р.	120, 121
Гнюбкин В.Ф.	21	Евстигнеев М.П.	24
Годжаев Н.М.	18, 19	Евтина А.А.	122
Голованов Е.А.	169	Егоров А.Е.	146
Гольшев С.А.	28	Егоров Е.Е.	152
Горбунова С.Ю.	85	Елагин В.В.	131
Гордеева А.Е.	114	Емельяненко В.И.	153
Горелкин П.В.	115, 123	Ермолаев Ю.Л.	170
Горовой Ю.М.	29	Ерофеев А.С.	115, 123
Горшкова Ю.Е.	128	Ефремов Р.Г.	74, 80
Горячев Н.С.	30, 164	Ефремова М.В.	116
Грачёв Д.И.	116	Жданкина Ю.С.	213
Григорьев Т.Е.	193	Железнова С.Н.	26, 27, 37
Григорьева Е.А.	207	Жуков В.В.	36, 44
Григорьева З.А.	116	Жукова Е.С.	136
Гриневич А.А.	62, 113, 181	Жукова О.Ю.	123
Гринкевич Л.Н.	117	Жуковская А.А.	64
Гринкевич О.М.	147	Жулидин П.А.	65
Гриценко К.А.	95, 116	Зайцев В.А.	124
Грякалов К.В.	141	Зайцева А.Ю.	152
Губарев А.А.	63	Заичкина С.И.	120
Гулин А.А.	157	Заломова Л.В.	33
Гулин А.С.	208	Зарубин В.Н.	125
Гуляев Ю.В.	157	Зателепин В.Н.	120
Гуменюк С.Е.	193	Захаров А.А.	67, 79
Гумматова С.Т.	38	Захаров Н.А.	66
Гурин А.Е.	31	Захарова Е.В.	192
Гурова Н.Н.	209	Захарова Т.В.	66
Гурьянова М.Ю.	160	Земскова М.Ю.	113
Гусакова В.С.	169	Зимин Ю.С.	142
Гусакова С.В.	102, 169	Золотавина М.Л.	111

Зорин В.П.	126	Кравченко И.Е.	126
Зорина Т.Е.	126	Криштоп В.В.	77
Зубарева И.С.	123	Крутецкая З.И.	78
Зубова К.В.	68	Крутецкая Н.И.	143, 144
Зуев Ю.Ф.	34, 127	Крюкова О.В.	52, 140
Зуева О.С.	127	Кузнецов А.В.	206, 217, 226
Зыкова Л.А.	107	Кузнецов А.С.	74
Ибрагимова Ж.М.	213	Кузнецова В.А.	68
Иванов А.В.	187	Кузнецова С.М.	153
Иванова Л.А.	128	Кулагина Т.П.	136
Иванова Э.А.	214	Кулиева А.Т.	216
Игнатъева М.М.	196	Куликова О.Р.	193
Изотова Е.Д.	69	Кульминская А.А.	128
Йованосич С.	148	Курбанова И.М.	32
Ипатова Л.Г.	157	Кусова А.М.	34
Исмаилова Л.И.	56, 70	Куулар А.М.	105
Казаринов К.Д.	129	Куус Е.А.	106
Какучая Т.Т.	105	Кучина Е.С.	135
Кальпа В.А.	35, 215	Лавриненко И.А.	152
Калюжный Д.Н.	46, 185, 195	Лагуткин Д.А.	152
Капитунова А.И.	36	Лалковичова М.	174
Капцов В.А.	71	Ланда С.Б.	97, 108, 137
Каримова Е.Д.	36, 40, 96, 130	Ландль Н.В.	122
Катермин Н.С.	130	Лантушенко А.О.	35, 104, 138, 215
Киселёв М.Р.	66	Лаптева Е.А.	135
Киселева Д.А.	132, 171	Ларюшкин Д.П.	120
Киселева Е.Б.	131, 168	Лауринавичюс К.С.	153
Клочков Б.Н.	72	Лебедев Д.В.	106
Клочкова В.С.	32, 37, 50	Левада Е.В.	95, 116, 148, 160
Ковалевский С.А.	118	Левин В.М.	193
Коваль Е.М.	66	Левшиц М.Д.	23
Козлов А.В.	164	Леконцева Н.В.	139
Козлова Е.Н.	95	Лелеков А.С.	37, 60, 89
Козырицкий Д.В.	71	Ленчер О.С.	78
Кокениши Ш.	23	Летута У.Г.	139
Кокшаров Ю.А.	81	Лисак С.В.	140
Колесникова В.Г.	95	Лишко В.К.	141
Колесникова Е.А.	61	Лобанов А.В.	20, 203, 225
Колесникова И.А.	174	Лобанов А.И.	56
Колесникова Н.Н.	207	Логинов Ю.Ю.	58
Комарова С.А.	39	Лопатина О.А.	118, 147
Кондратьев М.С.	192	Луговский А.П.	191
Коневега А.Л.	106	Луканина К.И.	193
Конюхова С.П.	134	Лукин А.Ю.	98
Копица Г.П.	128	Луценко А.О.	75, 91
Корнилаева Г.В.	147	Ляхова К.Н.	174
Королева В.А.	192	Мазалецкая Л.И.	198
Корчев Ю.Е.	115, 123	Майорова Л.А.	196
Космачевская О.В.	116, 113, 150, 183, 199	Макарова А.О.	127
Костарев К.В.	73	Макарская Г.В.	23, 140
Костина Е.А.	164	Маклецова М.Г.	141
Котельников А.И.	164	Максимов П.В.	21
Кочарли Н.К.	38	Максимович Е.С.	105
Кочиш И.И.	180	Максютова А.А.	142
Кравченко Е.М.	135	Макшакова О.Н.	106

Малышко Е.В.	21, 167	Одарюк И.Д.	135
Малюшкова Е.В.	191	Олешкевич А.А.	39, 155
Мамонтов А.А.	217	Ольхов А.А.	207
Мартусевич А.К.	199	Ольшанникова С.С.	192
Масленникова А.В.	100	Омельянчик А.С.	95, 160
Масленникова О.М.	77, 78	Орехова Д.Д.	36
Мастерова О.А.	170	Орлов М.А.	66
Матвеев В.В.	66	Орлов О.Ю.	21, 28
Матвеева О.В.	152	Осипов А.Н.	103, 110, 134, 180
Медведева В.А.	116	Охрименко Г.С.	40
Мезенцева М.В.	118	Павлик Л.Л.	99
Мельникова Н.В.	220	Панина И.С.	80
Мельницкая А.В.	143	Панчелюга В.А.	41, 120
Мельничук С.В.	163, 172	Панчелюга М.С.	41
Меркулова К.О.	79	Пасюков В.В.	176
Мещерякова А.А.	156	Пахомова В.Г.	52
Мизина Д.Р.	23	Педдис Д.	95
Микулинская Г.В.	146	Перетокина (Ивлиева) И.В.	156
Миленина Л.С.	144	Петрова И.В.	102
Милютин Н.П.	145	Петровская Л.Е.	98
Миронова Г.Д.	99	Печко А.Е.	109
Митронин А.В.	158	Пластун И.Л.	65, 67, 79
Михайлина А.О.	139	Плешков М.О.	124
Михайлова И.А.	20	Плотников П.П.	151
Михальчик Е.В.	129	Плотникова Л.В.	151
Михлина Е.В.	162	Плюснина Т.Ю.	90, 91
Моисеев А.А.	168	Повхова Л.В.	220
Молочков Н.В.	146	Погорелов А.Г.	157
Молчанов М.В.	153	Погорелова В.Н.	157
Морозова Г.И.	147	Подгорная А.Л.	89
Москвитин М.Д.	57	Полевой Д.М.	223
Моторжина А.В.	148	Полников И.Г.	129
Мухтаров М.М.	213	Попов А.А.	227
Мягченко Р.О.	24	Попова А.А.	221, 222
Мякишев М.В.	43	Посохина Е.Д.	162
Наквасина М.А.	149	Постнов Д.Э.	79
Насыбуллина Э.И.	133, 150, 199	Потапенков К.В.	81, 157
Наумов А.А.	67, 79	Поцелуева М.М.	120
Невзорова Ю.В.	116	Прокопов А.А.	158
Немчинова А.В.	218	Проскурнина Е.В.	188
Несвижский Ю.В.	189	Прохоров Д.А.	146
Нехорошев В.О.	122	Пурцхванидзе В.А.	160
Нечипоренко А.П.	151	Путинцева О.В.	169
Нечипоренко У.Ю.	151	Пушкова Е.Н.	220
Нечипуренко Ю.Д.	152	Пшеничников С.Е.	148, 160
Николаев Е.Н.	220	Рихирева Г.Т.	141
Николаева Т.И.	153	Рогачевская О.А.	48
Никулин А.Д.	139	Роденко Н.А.	109, 163
Новаковский Р.О.	220	Родионова В.В.	95, 116, 148, 160
Новикова Н.Н.	133, 183	Рожков С.П.	162, 166
Новоселов В.И.	114, 154	Рожмина Т.А.	220
Обернихин С.С.	155, 200	Розанцев М.В.	203, 225
Овсянников В.А.	170	Романчук С.М.	63, 205
Овчаренко Е.Н.	203, 225	Ронжин Н.О.	162
Огнева И.В.	213, 219	Рощина В.В.	42

Рубцова Н.А.	20	Старикова Т.И.	149
Руденко Т.В.	163	Старков Д.Н.	124
Руссу Л.И.	118	Старожук В.А.	171
Рууге Э.К.	116, 199	Степанов Г.О.	103, 110, 134
Рыбакова К.А.	217	Степанов М.Р.	99
Рыбкин А.Ю.	164	Степович М.А.	77, 78
Рыжков И.И.	162	Столяр С.В.	184, 201
Рысцов Г.К.	112	Стребков Д.С.	203, 225
Рябков М.Г.	168	Стрельникова И.Е.	23
Савельев И.В.	43	Стрельцова О.С.	131
Савранский В.В.	20	Стукова М.А.	187
Савченко Е.В.	206	Судоргин С.А.	83
Салецкий А.М.	157	Суетина И.А.	118
Салтыков М.Ю.	204	Сумбатьян Д.А.	186, 187
Самцов М.П.	191	Суслов М.А.	56
Сарангова А.Б.	204	Суюндукова А.Т.	172
Сардарян Л.В.	160	Сыбачин А.В.	157
Сарф Е.А.	101	Сыровец А.А.	104
Сафарли Г.Р.	19	Таланов Е.Ю.	99
Сафонов М.В.	44	Тальдаев А.Х.	80
Сафронова В.Г.	62, 121, 182	Тамашевский А.В.	175, 176
Свяжина Д.С.	23	Танканаг А.В.	181
Северюхин Ю.С.	174	Таранов И.В.	157
Северюхина М.С.	121	Тарасов Д.С.	191
Седов И.А.	105	Тарских С.В.	52, 140
Семак И.В.	191	Твердислов В.А.	21, 46, 167
Семёнов Д.А.	152	Тевонян Л.Л.	46
Семенова Е.В.	167, 187	Телегина Д.И.	177
Сербин А.Д.	223	Теселкин Ю.О.	178, 179
Сергеев А.И.	203	Тимашев П.С.	94
Сергеев В.Г.	196	Тимашев С.Ф.	174
Сергиевич Л.А.	42	Тимохина Е.П.	200
Сибирев А.Л.	77, 78	Титов В.Ю.	180
Сидорин Е.В.	132, 171	Титов С.А.	107, 189
Сидоров Р.В.	145	Тихонова И.В.	67, 121, 181, 182
Сидорова А.Э.	75, 82, 91	Тихонова Т.А.	47
Сизов М.А.	168	Тодоренко Д.А.	90
Симонян А.О.	144	Топунов А.Ф.	133, 150, 183, 199
Симунин М.М.	162	Тренкеншу Р.П.	84, 85, 208
Синельникова В.А.	112	Туранов А.Н.	127
Синченко А.В.	138	Турбин В.В.	203, 225
Ситникова В.Е.	151	Тюменцева А.В.	184, 201
Ситницкий А.Э.	34	Уваров И.П.	26, 27
Складнев Д.А.	98	Угарова Т.П.	141
Скуратовская Е.Н.	223	Уграицкая С.В.	33, 48
Слобожанина Е.И.	176	Удут В.В.	64, 163, 172, 194
Смаглий Л.В.	102, 169	Уразгильдеева Г.Р.	141
Смирнов А.А.	153	Урюпина Т.А.	99
Смирнова А.Н.	198	Ушмаров Д.И.	193
Соболев К.В.	95	Файзуллин Д.А.	105
Соколова Л.О.	169	Фаткуллин Т.М.	185
Солдатов А.А.	224	Федорова М.В.	97, 188
Соловьева А.Б.	94, 173	Федорова Н.Д.	186, 187
Сологуб Т.В.	170	Фесенко Е.Е.	31, 33, 48
Сорокин В.В.	156	Фефлер А.С.	116

Филатов М.В.	97, 137, 187	Швыдкий В.О.	198
Филин П.Д.	65	Шелехов Е.В.	66
Филиппова Е.М.	189	Шеховцов П.В.	153
Финашкин Д.С.	87	Шипко М.Н.	77, 78
Фирсова Е.Л.	147	Ширяев А.В.	85
Фисенко А.А.	23	Шишкина Л.Н.	198
Фрицлер Я.В.	88	Шишова Н.В.	48
Хавронюк И.С.	217, 226	Шпигун Д.К.	75, 91
Хадарцев А.А.	113	Штам Т.А.	97, 106
Хан И.	95	Шуваев А.Н.	88
Харченко А.А.	188	Шумаев К.Б.	116, 133, 150, 199
Хлудеев И.И.	191	Щеглаков И.П.	155
Ходонов А.А.	98	Щелконогов В.А.	129
Холявка М.Г.	192	Щербатюк Т.Г.	112, 136
Хомутов Г.Б.	81, 157	Эмануэль В.Л.	108, 137
Хохлов А.А.	48	Эрнандес Касерес Х.Л.	152
Храмцова Е.А.	193	Юнусова К.Э.	131
Хрущев С.С.	90	Ютина Д.М.	174
Цибулина А.О.	194	Яглов В.В.	155, 200
Цомартова Д.А.	155	Яглова Н.В.	155, 200
Чантурия А.Н.	49	Яковлева Ю.А.	52
Чарнович И.	23	Якунин С.Н.	183
Чащина Г.В.	195	Ярославов А.А.	157
Чеканов А.В.	129	Ярославцев Р.Н.	184, 201
Чекушкин А.А.	89	Arzola Flores J.A.	69, 76, 164
Чемерис Н.К.	113	Cervantes-Tavera A.M.	165, 174
Червицов Р.Н.	90	Gonzalez F. M.	174
Черенков И.А.	196	Hernandez Santiago A.A.	69, 164, 165
Черепанов И.С.	197	Hernandez-Apam M.A.	76, 174
Черепенин В.А.	157	Italo C. J.	174
Черкасова Е.И.	100	Lima G. R.	174
Чернышев Д.Н.	50	Lima Navarro G.	76
Чистякова Ю.А.	91	Morales M.A.	165
Чугунов А.О.	80	Moreno R.A.	174
Чукова Ю.П.	51	Ramos Esparaza S.	164
Чуфицкий С.В.	63, 205	Rodriguez-Meza M.A.	165
Шадрин К.В.	52	Rojas Rodriguez J.F.	69
Шайбекова Р.Р.	102	Vidal Robles E.	69, 76, 164
Шаповалова В.Е.	138	Zuniga Mora A.	69