

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ

(Минск, 24 мая 2019 г.)

В двух частях

Часть 2



Минск БГМУ 2019

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ

Тезисы докладов участников Республиканской конференции
с международным участием, посвященной 110-летию
со дня рождения В. А. Бандарина

(Минск, 24 мая 2019 г.)

В двух частях

Часть 2

Под редакцией В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой



Минск БГМУ 2019

УДК 57(043.2)

ББК 28

Ф48

Редакционная коллегия: зав. каф. общей химии канд. биол. наук, доц. В. В. Хрусталёв; канд. биол. наук Т. А. Хрусталёва; зав. каф. медицинской и биологической физики канд. физ.-мат. наук, доц. М. В. Гольцев; зав. каф. биоорганической химии канд. мед. наук, доц. О. Н. Ринейская; зав. каф. биологической химии д-р мед. наук, проф. А. Д. Таганович; зав. каф. биологии канд. биол. наук, доц. Е. В. Чаплинская; канд. мед. наук, доц. А. В. Бутвиловский; канд. мед. наук, доц. А. А. Астапов; асп. В. В. Побойнев

Ф48 **Физико-химическая** биология как основа современной медицины : тезисы докладов участников Республиканской конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения В. А. Бандарина (Минск, 24 мая 2019 г). В 2 ч. Ч. 2 / под ред. В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой. – Минск : БГМУ, 2019. – 164 с.

ISBN 978-985-21-0303-9.

Представленные результаты исследований относятся к области биологической химии, медицинской химии, медицинской и биологической физики, вычислительной биологии и биохимии, а также смежным вопросам медицины и фармации.

Предназначено для широкого круга научных работников.

УДК 57(043.2)

ББК 28

ISBN 978-985-21-0303-9 (Ч. 2)

ISBN 978-985-21-0302-2

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2019

Влияние N-ацетилцистеина на содержание факторов роста в легких новорожденных морских свинок в условиях гипероксии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Воздействие высоких концентраций кислорода на незрелые легкие является одним из факторов развития тяжелой хронической патологии легких у недоношенных детей - бронхолегочной дисплазии. Уменьшение альвеоляризации и нарушение васкуляризации легких является одним из характерных признаков этой патологии. Среди сигнальных механизмов, ответственных за нормальное развитие альвеолярного отдела, важная роль принадлежит факторам роста – трансформирующему фактору роста бета1 (TGFβ1) и сосудистому эндотелиальному фактору роста (VEGF). Учитывая зависимость экспрессии данных факторов от редокс-статуса, представляло интерес изучить влияние гипероксии и известного антиоксиданта N-ацетилцистеина на уровень TGFβ1 и VEGF в легких.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния N-ацетилцистеина при его ингаляционном введении в условиях гипероксии на содержание трансформирующего и сосудистого эндотелиального факторов роста в легких новорожденных морских свинок.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили с использованием новорожденных морских свинок, подвергавшихся действию гипероксии (70% кислорода) в течение 3 и 14 суток. Контрольные животные дышали обычным воздухом. Водный раствор N-ацетилцистеина для ингаляций (Белмедпрепараты, Беларусь) вводили из расчета 250 мг/кг с помощью небулайзера 1 раз в два дня. По окончании эксперимента животных наркотизировали и выделяли легкие для исследования. В гомогенате легких определяли содержание общего белка по Лоури, содержание TGFβ1 и VEGF иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов реагентов. Для статистического анализа различий между группами применяли непараметрический U-тест Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов.

Результаты. Выявлено увеличение уровня TGFβ1 в легких животных, подвергавшихся воздействию гипероксии в течение 3 суток, до 17,4 (13,7–29,1) пг/мг белка по сравнению с 13,1 (11,9–15,4) пг/мг белка в контрольной группе ($p < 0,05$). Содержание TGFβ1 в легких животных, получавших ингаляции с N-ацетилцистеином на фоне 3-суточной гипероксии, оставалось повышенным. При воздействии гипероксии

в течение 14 суток имела тенденция к росту содержания TGFβ1 в легких, которая, однако, не была статистически значимой; введение N-ацетилцистеина на фоне длительной гипероксии (14 суток) достоверного влияния на этот показатель не оказывало.

Как изолированное воздействие гипероксии при сроке наблюдения 3 суток, так и совместное с ингаляционным введением N-ацетилцистеина, не оказывало влияния на содержание VEGF в легких новорожденных морских свинок. При увеличении продолжительности влияния гипероксии до 14 суток отмечалось снижение уровня VEGF до 0,42 (0,28–0,53) пг/мг белка по сравнению с 0,66 (0,53–1,03) пг/мг белка в соответствующей контрольной группе ($p < 0,05$), что может способствовать повреждению легких за счет нарушения процесса созревания и нормальной васкуляризации альвеолярного отдела. Содержание VEGF в легких новорожденных морских свинок после ингаляционного введения N-ацетилцистеина в условиях 14-дневной гипероксии составило 1,45 (0,66–1,58) пг/мг белка, что достоверно не отличается от значений контрольной группы.

Заключение. Воздействие гипероксии в течение 3-х суток приводит к увеличению уровня трансформирующего фактора роста TGFβ1 в легких до 132% от контроля; при более длительном воздействии (14 суток) содержание TGFβ1 в легких новорожденных морских свинок не отличается от контроля. N-ацетилцистеин при ингаляционном введении на фоне 3-суточной гипероксии не оказывает влияния на содержание TGFβ1 в легких. При длительной гипероксии (14 суток) уменьшается содержание сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF в легких до 63,6% от контроля. Введение N-ацетилцистеина сопровождается нормализацией уровня VEGF в легких, что может способствовать улучшению альвеологенеза и препятствовать развитию диспластических изменений в легких.

Кравченко И.А., Нестеркина М.В.

Модуляторы TRP и ГАМК рецепторов как основа для создания полифункциональных лекарственных препаратов

Одесский национальный политехнический университет, г. Одесса,
Украина

Создания молекул лекарственных препаратов, способных одновременно связываться с различными фармакологическими мишенями является актуальной задачей в связи с проблемой полипрагмазии. Одним из путей решения указанной проблемы является разработка и синтез молекул, содержащих фрагменты биологически активных соединений, влияющих одновременно на различные типы рецепторов.

Эта идея была ранее реализована нами путем получения сложных эфиров на основе терпеноидов и нейромедиаторных аминокислот, связывающихся с ГАМКэргической системой и каналами переходного рецепторного потенциала (TRP). С этой целью синтезированы соединений, содержащие остатки моно- и бициклических спиртов (ментол, карвакрол, борнеол, эвгенол, гваякол), а также фрагменты гамма-аминомасляной (ГАМК) и глицина. Указанные соединения продемонстрировали пролонгированное противосудорожное и анальгетическое действие, что связано с их способностью подвергаться ферментативному гидролизу с высвобождением активных ингредиентов.

Цель. Настоящая работа является логическим продолжением предыдущего этапа и направлена на синтез соединений, связывающихся с рецепторами центральной и периферической нервной системы. Для этого нами получены гидразоны на основе моно- и бициклических терпеновых кетонов, к которым с помощью лабильной азометиновой связи прикреплены остатки гамма-аминомасляной кислоты. Полученные гидразоны исследованы как анальгетические и противосудорожные агенты на различных моделях *in vivo*.

Материалы и методы. Изучение противосудорожного и анальгетического действия гидразонов проводили на белых беспородных мышках массой 18–20 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом световом цикле, на стандартном рационе. Опыты на животных проводили в соответствии с правилами «Европейской Конвенции защиты животных, используемых в экспериментах и других научных целях» (Страсбург, 1986). Противосудорожную активность синтезированных соединений изучали на модели острых генерализованных судорог, которые вызывали внутривенным введением 1%-ного раствора конвульсанта пентилентетразола (ПТЗ) с регистрацией минимальных эффективных доз (МЭД) ПТЗ, вызывающих клонико-тонические судороги (КТС) и тоническую экстензию (ТЭ). Пороговую дозу ПТЗ, необходимую для наступления указанных судорог, вычисляли для каждого животного в мг/кг и выражали в процентах по отношению к контролю. Эти эффекты являются быстрообратимыми и концентрационно зависимыми, что позволяет корректно оценить противосудорожное действие исследуемого соединения. При исследовании анальгетической активности соединений в «капсаициновом тесте» боль у экспериментальных животных индуцировали субплантарным введением 20 мкл (6 мкг/конечность) раствора капсаицина в 1,2-пропиленгликоле. Сразу после инъекции раствора капсаицина каждое животное помещали в прозрачный бокс. За подопытными животными наблюдали в течение 5 минут и фиксировали время, затраченное жи-

вотным на облизывание пораженной конечности. Интенсивность болевой реакции оценивали по продолжительности паттернов облизывание (в секундах).

Результаты. Известно, что терпены, а также их производные воздействуют на фосфолипидные слои биологических мембран, вызывая их обратимую проницаемость, выступая, таким образом, усилителями проницаемости кожи. Это свойство было нами использовано для создания лекарственных форм для трансдермального введения. Анальгетическая активность указанных веществ изучалась в условиях их чрескожного введения в виде мягкой лекарственной формы. Обезболивающее действие полученных гидразонов превышала эффект препарата-сравнения анестезина в 2 раза. Указанное действие реализуется путем связывания соединений с TRP ионными каналами, расположенными в мембранах корнеоцитов.

Одновременно с этим вещества проявили высокую противосудорожную активность, реализуемую за счет связывания с ГАМК рецепторами.

Вывод. Таким образом, получены новые производные терпеноидов, обладающие полимодальным действием на рецепторы с повышенной проницаемостью через кожный барьер.

Кривопалова М.А., Глубокова М.Н., Макарычев Н.О., Приходько А.Н.

Исследование комплексообразования в растворах гумусовых кислот

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара,
Россия

Гумусовые кислоты (ГсК) различного генеза обладают широчайшим спектром биологической активности и используются в различных областях медицины и ветеринарии. Они не токсичны, обладают противовоспалительными, противовирусными, антибактериальными свойствами, усиливают обменные процессы в организме и представляют собой сложную макромолекулярную композицию, включающую ароматический сегмент, в боковых заместителях, которых содержатся различные функциональные группы. Гетерофункциональность гумусовых кислот позволяет рассматривать их как универсальную матрицу, в которой могут находиться различные компоненты, придающие препарату дополнительную биологическую активность [1, 2]. Структурные особенности гумусовых кислот определяют их потенциальные хелатообразующие свойства.

Цель: разработка методики изучения равновесий в растворах гумусовых кислот с ионами кобальта (II).

Материалы и методы исследования. Гумусонат кобальта получали добавлением к 0,001% раствору гумусовых кислот избытка соли нитрата кобальта с концентрацией 0,5 моль/л. Полученный осадок отфильтровывали и промывали небольшим количеством воды. Далее осадок высушивали на воздухе и на базе национального технического университета были получены инфракрасные спектры на ИК-Фурье спектрофотометре Spektrum 100 фирмы Perkin Elmer.

Раствор гумусоната кобальта получали путем добавления к 4 мл 0,001%-ного раствора гумусовых кислот 1 мл 0,5 моль/л раствора нитрата кобальта (II). Полученные растворы подвергались спектрофотометрическому анализу на спектрофотометре СФ-56 в диапазоне 300-800 нм и толщине кюветы 10 мм.

Результат. ИК-спектр гумусоната кобальта характеризуется интенсивной полосой пропускания в области 1610 см^{-1} , которая относится к взаимодействию по солевому типу, приводящему к образованию ионизированного карбоксилатного аниона – COO^- . Таким образом, в макромолекулах ГсК имеет место ион – ионное взаимодействие между карбоксильными группами кислот и ионами кобальта.

Для исследования процессов комплексообразования были сняты серии растворов с различным содержанием соли нитрата кобальта (II). Кривая светопоглощения нитратного комплекса кобальта имеет два асимметричных широких максимума при 300 и 520 нм. Установлено, что между интенсивностью пика и концентрацией ионов кобальта имеется прямая зависимость.

Далее фотометрированию подвергли серию растворов с различным соотношением Co^{2+} : ГсК, причем концентрация ионов Co^{2+} сохранялась постоянной, а концентрация ГсК изменялась. Следует отметить, что изменение интенсивности полос поглощения свидетельствует об изменении коэффициента экстинкции и, следовательно, об изменении природы связей Co^{2+} - лиганд.

Выводы. При помощи ИК-спектроскопии установлен механизм взаимодействия ионов кобальта (II) с ГсК, который включает в себя взаимодействие как по типу солеобразования, так и по типу комплексообразования. Гумусовые кислоты выступают в качестве хелатных лигандов. Показана возможность использования УФ – спектроскопии для изучения комплексообразования в системах ионы металлов – гумусовые кислоты.

Литература

1. Аввакумова Н.П., Кривопалова М.А., Глубокова М.Н., Фомин И.В. Исследование взаимодействий в системе «гуминовые кислоты - ионы калия» // В сборнике: Современная фармацевтика: теория, практика, эксперименты. Сборник материалов международной научной конференции, под редакцией Д.Ф.Нохрина. 2014. С. 7-12.

2. Аввакумова Н.П., Жданова А.В., Глубокова М.Н., Жернов Ю.В. Влияние гуминовых веществ пелоидов на процессы свободнорадикального окисления// Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13. № 1-8. С. 1960-1963.

Кривопалова М.А., Глубокова М.Н., Тузилина Н.В.

Биодоступность гумата кальция

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара,
Россия.

В настоящее время в практике врача-стоматолога актуальным является выбор средств и методов профилактики, диагностики, терапии и реабилитация пациентов, в анамнезе которых имеются дегенеративные заболевания полости рта. Проведено множество исследований, посвященных стимулированию остеообразования физиотерапевтическими и медикаментозными методами, однако большинство из них не применимы у пациентов с зубочелюстно - лицевыми аномалиями. Одним из методов интенсификации обменных процессов в костной ткани челюстей является применение гуминовых кислот пелоидов при ортодонтическом лечении в активном и ретенционных периодах. Однако, использование гуминовых кислот на слизистой оболочке полости рта осложняется проблемами транспорта специфических органических компонентов пелоидов через биомембраны, обусловленными их свойствами как биополимеров [1, 2].

Цель. Исследование биодоступности гумата кальция через слизистую оболочку полости рта животного.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования стали гуминовые кислоты низкоминерализованных иловых сульфидных грязей санатория “Сергиевские минеральные воды”. В качестве биологической мембраны были использованы фрагменты слизистой оболочки десны животного. Растворы гумата кальция одинакового объема помещали в диализаторы, которые помещали в стаканчики для диализата, содержащие 10 мл воды очищенной (оптимальные объемы определяли опытным путем). Оптическую плотность диализата определяли на приборе СФ-56 через каждые 20 минут в течение 3 часов при длине волны 400 нм, в кюветах 55 мм. Содержание гуминовых кислот определяли по предварительно полученному калибровочному графику.

Результаты. На основании экспериментальных значений средней массовой доли препарата в элюэнте был рассчитан удельный коэффициент диализа, вычисленный как отношение разности концентраций препарата до и после диализа к концентрации исходного раствора с учетом площади мембраны, который составил 4,3%.

Выводы. По результатам работы можно сделать вывод о проницаемости гумата кальция через слизистую оболочку полости рта. Это позво-

лит использовать препараты гомата кальция стоматологической практике для оптимизации остеобразования у людей с зубочелюстными аномалиями.

Литература

1. Аввакумова Н.П. Гоматы кальция и бария: синтез, физико-химические свойства / Н.П. Аввакумова, М.А. Кривопадова, М.Н. Глубокова, Е.Е. Катунина, И.В. Фомин // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15, №3-3. С. 1163-1166.
2. Степанов Г.В. Гуминовые кислоты в комплексном лечении пациентов с зубочелюстно-лицевыми аномалиями в ретенционном периоде / Г.В. Степанов, И.О. Аюпова, Н.П. Аввакумова, М.Н. Глубокова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2015. Т. 17, №5. С. 314-316.

Кузнецова Н.Б.

Динамика содержания свободных аминокислот (фенилаланина и тирозина) плазмы крови при системной красной волчанке и ревматоидном артрите

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

Согласно современным представлениям, системная красная волчанка (СКВ) и ревматоидный артрит (РА) – тяжелые аутоиммунные заболевания неизвестной этиологии, с неконтролируемой продукцией антигенов к собственным клеткам и их компонентам, иммуновоспалительным поражением жизненно важных органов и систем с развитием полиорганной патологии при СКВ и персистирующим воспалением периферических суставов и развитием прогрессирующего эрозивно-деструктивного полиартрита при РА.

Наряду с широким спектром иммуновоспалительных проявлений для СКВ и РА характерны нарушения метаболических процессов: белкового и аминокислотного спектров крови.

Целью нашей работы явилось исследование свободных аминокислот крови у больных СКВ (86 чел.) и РА (74чел.), в частности, фенилаланина (ФЕН) и тирозина (ТИР), как наиболее показательных изменений при данной патологии, а также их диагностическое значение для пациентов СКВ и РА и влияние на дисбаланс свободных аминокислот крови, кортикостероидной терапии в зависимости от степени активности. Исследование уровня свободных аминокислот, в частности фенилаланина (ФЕН) и тирозина (ТИР) плазмы крови у больных СКВ и ТИР позволяет оценить глубину обменных нарушений, поражений внутренних органов и систем.

Анализ свободных аминокислот плазмы крови (23 аминокислоты) проводился на автоматическом аминокислотном анализаторе ААА-881 (Микротехна, Чехия) методом ионообменной хроматографии с каче-

ственной и количественной оценкой по цветной реакции с нингидрином.

Широкий размах колебаний свободных аминокислот крови при СКВ и РА связан с вовлечением в патологический процесс внутренних органов. С этой целью проведен анализ концентрации свободных аминокислот (ФЕН и ТИР) с поражением почек и печени и без поражения у больных СКВ. У больных СКВ с поражением почек достоверно, по сравнению с группой пациентов без поражения почек были увеличены показатели ФЕН и ТИР, в то время как без поражения почек (клинически) - был увеличен только ТИР. Среди обследованных больных с РА выделены две подгруппы: с преимущественным поражением суставов и с системным поражением внутренних органов. В эту группу входили больные с амилоидозом почек, миокардиодистрофией, синдромом Шегрена, серозитами, нейропатией. В группе с висцеральными поражениями достоверно были повышены ТИР и ФЕН. В группе с преимущественным поражением суставов ТИР и ФЕН были повышены незначительно, без статистической достоверности.

Проведен анализ дисбаланса свободных аминокислот крови от принимаемой дозы глюкокортикостероидов (ГКС).

При применении минимальных и умеренных доз ГКС (5-10 мг) и (15-20 мг) сохранялась тенденция к повышению ароматических аминокислот ФЕН и ТИР. И только на минимальных дозах ГКС (5 мг) при РА достоверно снижались ФЕН и ТИР.

При дозах ГКС выше 15 мг в сутки уровни ФЕН и ТИР у пациентов с РА снижались до нормального уровня. У пациентов с СКВ уменьшалась общая сумма незаменимых свободных аминокислот и сохранялся повышенный уровень ФЕН и ТИР.

Таким образом, следует думать, что ГКС терапия пациентов с СКВ и РА оказывает неодинаковый нормализующий эффект на уровень незаменимых свободных аминокислот и, в частности, на ароматические аминокислоты ФЕН и ТИР, что по-видимому зависит от системного поражения внутренних органов и активности патологического процесса, более выраженного при СКВ. Уровень свободных аминокислот крови при СКВ и РА при минимальной степени активности уже претерпевает изменения, независимо от клинических проявлений, вовлечения в процесс внутренних органов и систем. Влияние ГКС терапии в минимальных и умеренных дозах оказывают аминокорректирующее воздействие на свободные аминокислоты плазмы крови у пациентов с СКВ и РА.

**Методики определения золедроновой кислоты в воздухе
рабочей зоны фармацевтических предприятий
и в воздухе населенных пунктов**

РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

Важное место в системе государственного санитарного надзора занимает контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны промышленных предприятий и атмосферном воздухе населенных пунктов. Он проводится для установления соответствия фактических концентраций опасных загрязнителей в воздухе их предельно допустимым концентрациям или ориентировочно безопасным уровням воздействия, что позволяет предупредить возможное превышение нормативов и обеспечивает безопасные условия труда и проживания людей. При производстве лекарственных средств на фармацевтических предприятиях возможно попадание действующих веществ в воздух рабочей зоны и атмосферы. Лекарственные препараты, в особенности, используемые в лечении онкологических заболеваний, как правило, обладают широким спектром побочных эффектов и их присутствие в воздухе недопустимо.

Золедроновая кислота — бифосфонат, обладающий избирательным действием на костную ткань. Препарат подавляет активность остеокластов, поэтому применяется для лечения остеопороза. Обладает также прямым противоопухолевым действием, эффективен при лечении метастазов в костях. Бесконтрольное поступление золедроновой кислоты в организм человека опасно, поскольку может приводить к нарушению фертильности, увеличению предимплантационных потерь и снижению числа имплантаций и живых плодов, повышению числа мертворождений и снижению выживаемости новорожденных, к порокам развития скелета и внутренних органов плода, внешним аномалиям развития плода, возникновению токсичности в отношении материнского организма вплоть до материнской смертности [1]. В мире не существует методик определения золедроновой кислоты в воздухе. Цель работы — разработать высокочувствительные и селективные методики выполнения измерений (МВИ) массовой концентрации золедроновой кислоты в воздухе рабочей зоны и атмосферы.

Согласно первой МВИ воздух рабочей зоны с объемной скоростью 20 дм³/мин протягивают в течение 30 мин с помощью аспирационного устройства через аналитический аэрозольный фильтр АФА-ВП-20-1 на основе перхлорвинила. После концентрирования золедроновой кислоты на фильтре вещество экстрагируют деионизованной водой под действием ультразвука. Экстракт напрямую анализируют с помо-

щью высокоэффективной жидкостной хроматографии. В качестве неподвижной фазы используют колонку Zorbax XDB-CN (размером 150 мм × 4,6 мм, зернением 3,5 мкм (производства Agilent Technologies (США)), температура термостата колонки — 40 °С. В качестве подвижной фазы применяют смесь деионизованной воды с ацетонитрилом и 85%-ной муравьиной кислотой в соотношении 978,822:20:1,178 (по объему), скорость потока — 0,75 см³/мин. Объем вводимой в хроматограф пробы составляет 25 мм³. Идентификацию золедроновой кислоты проводят по времени удерживания при длине волны детектирования 257 нм, количественное определение — методом абсолютной калибровки. Используя разработанную методику, с вероятностью 95 % гарантировано достижение открываемости (recovery) золедроновой кислоты в воздухе рабочей зоны на уровне 96,7 %. Максимальная расширенная неопределенность методики составляет 30 %.

Согласно второй МВИ воздух атмосферы с объёмной скоростью 3 дм³/мин протягивают в течение 100 мин с помощью аспирационного устройства через 3 см³ поглотительного раствора (деионизованной воды), помещенного в поглотительный прибор. Поглотительный раствор, содержащий золедроновую кислоты, анализируют так же, как и экстракты из фильтров. Используя разработанную методику, с вероятностью 95 % гарантировано достижение открываемости золедроновой кислоты в воздухе атмосферы на уровне 97,1 %. Максимальная расширенная неопределенность методики составляет 29 %.

Нижний предел количественного обнаружения вещества в обеих методиках составляет 0,001 мг/м³.

Разработанные МВИ нашли применение на фармацевтических предприятиях Республики Беларусь.

Литература

1. Золедроновая кислота [Электронный ресурс] // Регистр лекарственных средств России. – Режим доступа: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_3044.htm - Дата доступа: 01.11.2017

Куничкина А. А., Шолух М. В.

Наночастицы диоксида титана, покрытые декстран сульфатом, как наноразмерные катионообменники

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
Ранее была показана возможность взаимодействия митохондриальной аспартатамино-трансферазы (мАспАТ) с наночастицами TiO₂, покрытыми декстран сульфатом (НЧ TiO₂-ДС) [1]. Однако природа этого взаимодействия установлена не была. В связи с тем, что декстран сульфат имеет отрицательно заряженные сульфогруппы, а мАспАТ

при pH ниже pI заряжается положительно, высказано предположение, что взаимодействие белка с НЧ TiO_2 -ДС может протекать по типу ионного обмена. Проверка сделанного предположения и явилась целью данной работы.

Стабильную водную дисперсию НЧ TiO_2 (анатаз, нанопорошок, <25 нм) получали ультразвуковой обработкой НЧ в присутствии ДС [3]. Покрытые полимером НЧ отделяли от свободного декстран сульфата центрифугированием. Дисперсия НЧ TiO_2 -ДС в деминерализованной воде сохраняла стабильность не менее четырех месяцев. Установлено, что белок лизоцим в фосфатном буфере с pH=6,2 (pI лизоцима=10,5) связывается с НЧ TiO_2 -ДС в течение первой минуты и удерживается не менее 30 мин. Через час наблюдается десорбция лизоцима, не превышающая 10 %.

Полное связывание лизоцима (100 мкг/мл) достигается при увеличении концентрации НЧ TiO_2 -ДС до 150 мкг/мл. Реакция проводилась в 5 ммоль/л калий-фосфатном буфере с pH=6,2. Ёмкость сорбента по лизоциму составила 670 мг белка на 1 г сухого сорбента. Для сравнения: ёмкость набухшей СМ-целлюлозы (Whatman СМ 52) для лизоцима, белка с молекулярной массой 14300 Да, составляет 130 мг/см³. В пересчете на сухой вес сорбента это 0,65 мг белка на 1 мг целлюлозы [2]. Как ионообменник, НЧ TiO_2 -ДС способны связывать ионы противоположного заряда и обменивать последние на более активные ионы: при повышении концентрации фосфатного буфера с 5 ммоль/л лизоцим стал переходить в растворимую фазу. По достижении концентрации буфера 100 ммоль/л весь белок десорбировался.

Таким образом, наночастицы диоксида титана, покрытые декстран сульфатом, по выполняемой функции могут быть отнесены к наноразмерным ионообменным материалам, для которых характерны следующие особенности: в отличие от сорбентов на основе целлюлозы, сефадекса и других, наноразмерные ионообменники на основе оксидов металлов не набухают, обладают высокой механической прочностью; водные дисперсии наночастиц оксидов металлов, покрытых полиэлектролитами, обладают высокой стабильностью в течение длительного времени и имеют высокую ёмкость.

Литература

1. Шолух М.В., Салем А.Э. Характеристика взаимодействия наночастиц магнетита модифицированных декстран сульфатом с митохондриальной аспаратаминотрансферазой // Сборник научных статей первого белорусского биохимического конгресса, 2016, т. 2. с. 90-95.
2. Скоупс Р. Методы очистки белков. М.: «Мир». 1985.
3. Canesi L., Ciacci C., [et al.]. In vitro effects of suspensions of selected nanoparticles (C60 fullerene, TiO_2 , SiO_2) on Mutilus hemocytes // Aquatic Toxicology. 2010. № 96. p. 151-158.

**Получение комплексов включения β -циклодекстрина
с биологически активными веществами,
их токсиколого-гигиеническая оценка**

¹РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Зачастую комбинации биологически активных веществ (БАВ) в определенных соотношениях позволяют значительно усилить их биологическую активность по сравнению с их монокомпонентными аналогами. Особого внимания заслуживает решение проблемы комбинирования в составе одного препарата соединений с кардинально разнящимися физико-химическими свойствами. Так, вещества, обладающие низкой термо- и фотостабильностью, активно окисляющиеся под воздействием кислорода воздуха или активных компонентов, присутствующих в композиции, накладывают ограничения на качественный состав продукта, сроки годности, а также требуют особых условий хранения.

Значительную сложность представляет создание композиций, включающих одновременно гидрофильные и гидрофобные соединения и пр. Одним из перспективных решений этой задачи представляется использование мультикомпонентных композиций на основе β -циклодекстрина (β -ЦД).

Цель исследования – разработать мультикомпонентные композиты β -ЦД с жир- и водорастворимыми витаминами, гидролизатами белков сыворотки молока, провести их токсиколого-гигиеническую оценку и определить антимуtagenные и антирадикальные свойства.

Методы исследования: дифференциальная сканирующая калориметрия и термогравиметрия, газовая хроматография с масс-спектрометрией, высокоэффективная жидкостная хроматография, токсиколого-гигиеническое исследование на *Tetrahymena pyriformis*, вариант бактериального теста Эймса – планшетный FАТ-тест (High Throughput Fluctuation Ames Test), иммунно-химические методы.

Результаты исследования. Получены клатраты β -ЦД с витаминами D₂, D₃, С, В₁₂ и проведена их токсиколого-гигиеническая оценка. По результатам токсиколого-гигиенической оценки на *T. pyriformis* β -ЦД относится к 4 классу опасности (является малоопасным веществом), клатрат β -ЦД с витамином D₂ относится к 3 классу опасности (умеренно опасные вещества), а комплекс β -ЦД с витамином D₃ является малоопасным соединением. Комплекс β -ЦД с витамином В₁₂ относится к 5 классу опасности (неопасные вещества). Проведено сравнительное исследование продуктов протеолиза молочной сыворотки и обез-

жиренного молозива алкалазой, охарактеризованы антиоксидантные, антимуtagenные и антигенные свойства полученных частичных гидролизатов. Получены экспериментальные образцы комплексов включения β -ЦД с пептидами сывороточных белков молока, оценены их органолептические и антиоксидантные свойства. Согласно данным термогравиметрического анализа подтверждено образование клатратов β -ЦД с пептидами. Для клатратов β -ЦД с гидролизатом сывороточных белков молока выявлено существенное снижение горечи (на 60–70 %). Наблюдалось увеличение антирадикального потенциала с возрастанием температуры образования клатратов с 25 до 50 °С. По результатам флуориметрических исследований максимальная ингибирующая активность установлена для комплексов включения β -ЦД с пептидами, полученных при температуре 50 °С.

В соответствии с данными иммунохимического анализа ферментативный гидролизат белков сыворотки молока алкалазой и его комплексы включения в β -ЦД не проявляют иммунореактивности и являются гипоаллергенным продуктом. Клатраты β -ЦД с куркумином обладали выраженным генопротекторным эффектом.

Заключение. Полученные данные и разработанная на клатраты β -ЦД с БАВ нормативно-техническая документация позволяет перейти к практическому использованию полученных соединений для нутрицевтивной поддержки медицинской помощи и создания специализированных пищевых продуктов, в том числе гипоаллергенных.

Курьян Н.Н.

Исследования волос курящих жителей г. Гродно и Гродненской области

УО «Гродненский государственный университет имени Я. Купалы»,
г. Гродно, Беларусь

Проблема дефицита макро- и микронутриентов в организме человека для различных групп населения городских регионов остается недостаточно изученной. В первую очередь это относится к курящему молодому населению. Растущий организм наиболее чувствителен к неблагоприятным условиям среды обитания и к дефициту эссенциально значимых микроэлементов.

Целью работы является выявление групп риска среди курящих, разработка мер профилактики полидисмикроэлементозов.

Для выявления особенностей формирования нарушений баланса микро- и макроэлементов среди курящих г. Гродно и Гродненской области были отобраны группы наблюдения и контрольные группы мужского пола в возрасте от 17 лет до 30 лет: курящие (25 человек); контрольная группа (25 человек). Исследования количественного эле-

ментного состава производились с помощью метода рентгенофлуоресцентного спектрального анализа (РФА) [1]. Пробоподготовка и исследование количественного элементного состава образцов волос осуществлялась согласно методике МВН.МН 3730-2011 [2]. Полученный материал обрабатывался с помощью статистического пакета программ SPSS Statistics 22.0, а также MS Excel. Каждый участник наблюдения имел характеристику в виде индекса массы тела (ИМТ). Для курящих мужчин ИМТ составил (15,82-28,70) кг/м²; контрольная группа - (17,26-27,17) кг/м². Анализ полученных данных указывал на то, что наибольший дисбаланс содержания химических элементов (выше и ниже нормы содержания веществ в организме) наблюдается у курящей группы. У курящих мужчин в избытке находятся такие химические элементы, как: Zn и Pb (60 % наблюдаемых); K (52 % наблюдаемых); Mn и Cr у (40 % наблюдаемых). Следует учесть, что дисбаланс по Ca для курящих и контрольной группы наблюдается в равной степени (≈ 60 % человек). Данный вывод позволяет предположить, что снижение уровня Ca (≈ 80 % случаев) связано преимущественно не с употреблением табака. На содержание Ca в организме мужчины могут влиять такие факторы, как: перенесенные заболевания, питание, внешняя среда. Для более корректной оценки результатов, выполнены расчеты медианных значения всех показателей в разных группах, первый и третий квартили. Статистическая обработка результатов позволила выявить что, у ≤ 25 % курящих мужчин в возрасте (17-30) лет выявлен глубокий дефицит Ca, Zn, K, Mn и недостаток Fe. У ≤ 75 % курящих мужчин Fe, Pb и Sr находятся в избытке. Медиана концентраций у курящей группы по Cu, Cr, Pb, Hg, Cd находится ближе к верхней границе референтных значений. Для оценки метаболической активности химических элементов и определения тенденций формирования патологий были использованы соотношения биоэлементов - Ca/K и Zn/Cu. Расчеты данных соотношений производили в индивидуальном порядке, после чего были рассчитаны медианные значения. Соотношения Ca/K и Cu/Zn для курящей группы мужчин выше, чем для контрольной группы в $\approx 1,2$ раза. Соотношение Zn/Cu для контрольной группы находится в рамках нормы, а соотношение Ca/K для курящей группы выше нормы. Увеличенное соотношение Ca/K для обеих групп свидетельствует о том, что помимо курения на организм человека пагубное влияние оказывают и другие факторы. Показана возможность использования метода рентгенофлуоресцентного анализа, как метода контроля баланса микро и макроэлементов в организме курящих различных половозрастных групп. Данные, полученные в ходе исследований, обрабатывались методами математи-

ческой статистики для связанных выборок, что позволило достоверно оценить вариации концентраций макро- и микроэлементов в волосах курящего и некурящего населения города Гродно и Гродненской области.

Литература

1. Loseva L.P., Features of micro- and macro- elements accumulation in organisms of student-athletes / L.P. Loseva, T.K. Krupskaya, O.M. Tsivunchuk, S.S. Anufrik / Sporto Mokslas. - 2016, № 1(83), P. 2424-3949.
2. Методика проведения исследований элементного состава волос с помощью рентгенофлуоресцентного спектрометра: МВИ.МН 3730-2011 10.04.11 – Гродно: 2011.

*Кухаренко Л.В.¹, Чижик С.А.², Дрозд Е.С.², Гольцев М.В.¹,
Мороз-Водолажская Н.Н.¹*

Оценка морфофункционального состояния тромбоцитов пациентов с хронической сердечной недостаточностью с помощью атомно-силовой микроскопии

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

²Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси,
г. Минск, Беларусь

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) широко используется для исследования морфологии поверхности и локальных вязко-упругих свойств плазматической мембраны тромбоцитов в условиях максимально приближенных к нативным. Известно, что тромбоциты играют одну из ключевых ролей в патогенезе хронической сердечной недостаточности. Так, триггером гиперкоагуляционного синдрома является увеличение адгезивной и агрегационной активности тромбоцитов. Поэтому определение внутрисосудистой активации кровяных пластинок, а так же характеристика упруго-вязких свойств их клеточной мембраны особенно важны для оценки гемостазиологического статуса пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

В данной работе методом АСМ определялась внутрисосудистая активация тромбоцитов для оценки их адгезивной и агрегационной активности, а так же определялись локальные вязко-упругие характеристики мембраны тромбоцитов (локальный модуль Юнга, адгезия, жесткость) пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности с использованием имплантируемого двухжелудочкового вспомогательного сердца.

Исследование упругих свойств кровяных пластинок осуществлялось при помощи специализированного экспериментального комплекса, совмещающего функции сканирующей зондовой и оптической микроскопии. Данный комплекс состоит из атомно-силового микроскопа

NT-206 (ОДО «Микротестмашины», Беларусь) с возможностями микропозиционирования зонда над образцом в пределах площадки 10x10 мм и оптической системы (НПРУП «ЛЭМТ» БелОМО, Беларусь). АСМ сканирование проводили стандартными кремниевыми зондами в контактном режиме. Статическая силовая спектроскопия выполнялась кремниевыми зондами («MikroMasch» Co., Эстония) CSC38 с жесткостью консоли 0,03 Н/м. Радиус закругления острия игл, используемых для оценки упругих свойств, составлял 60 нм. Суть статической силовой спектроскопии состоит в реализации контактного деформирования исследуемого объекта острием зонда и в измерении зависимости силы взаимодействия зонда с поверхностью образца от расстояния между ними. Расчет модуля упругости выполнялся по регистрируемым кривым с использованием модели Герца.

Исследование топографии поверхности тромбоцитов осуществлялось с помощью АСМ Nanoscope (R) IIIa (Veeco) в режиме прерывистого контакта на воздухе с использованием стандартных кремниевых кантилеверов ($k=29\text{--}57\text{ Н/м}$, Nanosensors GmbH). Наряду с топографией поверхности поточечно определялись локальная жесткость и адгезия тромбоцитов методом Pulse Force Modulation с использованием стандартных кремниевых кантилеверов NSC12/Si3N4/50 ($k=0,65\text{ Н/м}$, MikroMasch).

Для того чтобы исследуемые морфологические признаки тромбоцитов соответствовали их функциональному состоянию в кровотоке, забор крови из локтевой вены проводился максимально быстро с последующей фиксацией 2 мл крови в 4 мл 0,125% глутаральдегида.

С помощью атомно-силовой микроскопии выявлена внутрисосудистая активация тромбоцитов, а также увеличение адгезивной и агрегационной активности кровяных пластинок у пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности. В результате оценки модуля упругости методом АСМ было установлено, что у пациентов основной группы (имплантация двухжелудочкового ВЖС) на этапе дооперационного исследования модуль упругости тромбоцитов ($E=111,8\pm 6,9\text{ кПа}$) достоверно выше, чем в группе здоровых лиц ($E=62,6\pm 6,2\text{ кПа}$). При повторных заборах крови наблюдается тенденция к увеличению модуля упругости кровяных пластинок относительно исходных значений, а, следовательно, эластичность мембраны тромбоцитов снижается и клетки становятся более жесткими. Значение модуля упругости у здоровых лиц существенно отличается от значения данного параметра у пациентов с имплантированным двухжелудочковым ВЖС в ранние и поздние сроки после операции. Так, значение локального модуля упругости на 30 сутки после операции в 2,4 раза больше, значения локального модуля упругости у здоровых лиц.

The association CXC chemokine receptor 4 and CC chemokine receptor 5 gene variants with chronic obstructive pulmonary disease

Belarusian state medical university, Minsk, Republic of Belarus

Background. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is characterized by chronic obstruction of expiratory flow affecting peripheral airways, associated with chronic bronchitis and emphysema, together with fibrosis and tissue damage, and inflammation of the small airways. The mechanisms for the development of COPD are based on the directed migration of lymphocytes, neutrophils, macrophages and other cells to the area of inflammation. The recruitment of inflammatory cells depends on interaction of chemokine and cytokine molecules with their receptors. Mutations in the genes that encode these proteins can affect the concentration or functional activity of chemokines and their receptors. This can increase inflammation and lead to characteristic structural changes in the airways and the progression of the disease. Consequently, certain people may have a higher genetic predisposition for developing COPD, which depends on the structure of chemokine genes and their receptors. The comparative analysis will improve our knowledge of some of the genetic features of this disease.

Aim. The aim of this study was to investigate whether the polymorphisms rs2228014 of CXC chemokine receptor 4 (CXCR4) gene and rs333 of CC chemokine receptor 5 (CCR5) gene are associated with the risk of COPD development in the Belarusian population.

Materials and methods. The polymorphisms were studied in 62 COPD patients and 34 healthy controls. This case-control association study comprised subjects of Belarusian ethnicity from the Minsk. All of them were recruited from Health Care Institution "Minsk Clinical Consulting and Diagnostic Centre" over the period of 2016–2018. Genomic DNA was isolated from peripheral blood by a standard protocol. The genetic variants were genotyped by real time fluorescence polymerase chain reaction (RT-PCR) with TaqMan probe technology.

Results. After Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) p-value screening we excluded the single nucleotide polymorphism rs333 of CCR5 gene ($\chi^2=23.89$ in COPD group) with $p<0.0005$. The distribution of CXCR4 genotypes were differed significantly in COPD patients and controls ($\chi^2=6.76$, $p=0.03$). The frequencies of genotypes G/G and G/A that contain wild type allele G were lower in the COPD patients to control group compared (0.0% vs. 6.1% and 16.4% vs. 30.3%, respectively). At the same time, there were more homozygous carriers in the COPD patients. The genotype with two mutant A alleles was found in 83.6% of patients with

COPD and only in 63.6% of healthy individuals. Homozygous carrier state of CXCR4 indicates 2.91-fold higher risk of COPD (95% CI: 1.09-7.77).

Conclusion. The rs222801 genotype variant of CXCR4 contributes to the prediction of COPD and may be used as the marker for the early disease prevention in risk groups of the Belarusian population.

Лабар С.¹, Стенуро И.И.¹, Стенуро В.И.², Травкина М.³, Янцевич А.В.³

Влияние мелатонина на окисление тиамин и его фосфорных эфиров оксоферрильными формами миоглобина

¹ГП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», г. Гродно, Беларусь

²УО «Гродненский государственный университет
имени Янки Купалы», г. Гродно, Беларусь

³ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», г. Минск,
Беларусь

Мелатонин, основной гормон эпифиза (шишковидного тела мозга, пинеальной железы) участвует в регуляции соматической и автономной нервных систем человека, эндокринных органов и иммунной системы. Кроме того мелатонин выступает в качестве эндогенного антиоксиданта, является эффективной ловушкой активных форм азота и кислорода, препятствует повреждению ДНК канцерогенами, ингибирует действие механизмов приводящих к образованию раковых опухолей. Тиамин (или витамин В₁) является важнейшим незаменимым фактором питания и используется в организме в качестве структурного компонента молекулы тиаминдифосфата (ТДФ). ТДФ является кофактором таких важнейших ферментов энергетического метаболизма, как пируватдегидрогеназа и α -кетоглутаратдегидрогеназа. ТДФ также является кофактором транскетолазы, ключевого фермента пентозофосфатного цикла. Целью работы является установление механизма защитного действия тиамин (Т), связанного с инактивацией свободных радикалов эффективного эндогенного антиоксиданта мелатонина.

Материалы и методы. Масс-спектры Т и его производных зарегистрированы с использованием квадрупольно-времяпролетного тандемного масс-спектрометрического детектора Q-TOF 6550 в режиме ионизации электрораспылением (ESI⁺). Концентрацию кислорода, образующегося при взаимодействии пероксида водорода с метмиоглобином, измеряли полярографическим методом, используя электрод Кларка (Hansatech Instruments Ltd). Измерения концентрации тиохрома и оксодигидротиохрома проводили также на спектрофлуориметре CM2203 (Солар, Беларусь). Флуоресцентные свойства оксодигидро-

тиохрома и тиазолон-тиамина изучали методами стационарной и разрешенной во времени флуоресценции.

Результаты и обсуждение. Показано, что молекулы Т ($m/z = 265.111[M]^+$) в двухэлектронной реакции с оксоферрильной формой миоглобина $^{++}Mb(IV=O)$ (соединение I) окисляются с образованием тioxрома ($m/z = 262.088[M]^+$), а соединение I восстанавливается до метмиоглобина Mb(III). Образовавшаяся молекула тioxрома взаимодействует с другой молекулой оксоферрильной формы миоглобина $^{++}Mb(IV=O)$. В результате реакции тioxром окисляется с образованием оксодигидротioxрома ($m/z = 278.812 [M]^+$), а соединение I восстанавливается до метмиоглобина. Молекулы мелатонина вследствие взаимодействия с оксоферрильной формой миоглобина $^{++}Mb(IV=O)$ образуют свободные радикалы с локализацией неспаренного электрона на атоме углерода 2 или 3 индольного кольца, а соединение I восстанавливается молекулами мелатонина в последовательных одноэлектронных реакциях до метмиоглобина Mb(III).

В присутствии Т выход 2-гидроксимелатонина ($m/z=248.128[M]^+$) и 2,3-гидроксимелатонина ($m/z =265.128[M]^+$) уменьшается. При высоких концентрациях Т наблюдали практически полное ингибирование образования 2-гидроксимелатонина в псевдопероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином. В анаэробных условиях, а также в присутствии сульфита, в растворах, содержащих мелатонин, метгемоглобин и пероксид водорода, выход тioxрома возрастает. Образование производных мелатонинкинурамина, напротив, снижается в присутствии тиамина или в присутствии сульфита, а также в анаэробных условиях. В присутствии кислорода свободные радикалы мелатонина образуют пероксидные радикалы, которые трансформируются в производные мелатонинкинурамина. Между молекулами кислорода и молекулами Т наблюдаются конкурентные взаимодействия в реакциях со свободными радикалами мелатонина, локализованными на атоме С3. Мы показали, что пероксидные радикалы мелатонина взаимодействуют со вторым углеродом тиазольного кольца молекулы Т с образованием тиамина тиазолон ($m/z =280,0992 [M]^+$).

Заключение. Показано, что окисление Т и его фосфорных эфиров, катализируемое метMb в присутствии пероксида водорода, сопряжено с окислением мелатонина. В присутствии мелатонина происходит резкое возрастание выхода тioxрома и других продуктов окисления Т после инкубации растворов, содержащих Т, метмиоглобин и пероксид водорода. Т восстанавливает катион-радикал мелатонина до молекулы мелатонина и, оказывает стабилизирующий эффект на уровень мелатонина в организме при окислительном стрессе.

Оценка некоторых систем гомеостаза при раке эндометрия

¹ УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

² ГУ «РНПЦ онкологии и медицинский радиологии
им. Н.Н. Александрова», г. Минск, Беларусь

Для выбора оптимального метода лечения рака эндометрия (РЭ) необходимо знать состояние нескольких систем гомеостаза: иммунологической (ИС), гормональной (ГС), перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной (АОС), играющих основную роль в патогенезе карциномы тела матки

Цель: изучить показатели ИС, ГС, ПОЛ и АОС у пациенток с РЭ I стадии и сравнить полученные данные с аналогичными величинами гомеостаза у здоровых женщин, находящихся в постменопаузе.

Материалы и методы. Иммунологический статус оценен у 49 пациенток и 31 здоровой женщины. Показатели клеточного иммунитета в крови определяли по методу Д.К. Новикова, гуморального – по методу Манчини. Для характеристики гормонального статуса у 85 пациенток и 31 женщины контрольной группы, изучали гормоны щитовидной железы (трийодтиронин, тироксин, тиреоглобулин, тиреостимулирующий гормон), половые гормоны (эстрадиол, прогестерон и тестостерон) и кортизол. Содержание в крови гормонов определяли радиоиммунным методом с помощью наборов фирм «Amersham», «ИБОХ» и специального гамма-счетчика. Активность ПОЛ и АОС изучали у 58 пациенток и у 36 здоровых женщин. Для этого использовали спектрофлуорометрический метод. Диеновые конъюгаты и диенкетонны определяли по поглощению спектра гептановой фазы; малоновый диальдегид – по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой; основания Шиффа – по методу Бидлака; витамин А (ретинол) и Е (токоферол) по методу Р.Ч. Черняускене.

При математической обработке полученных данных пользовались лицензионным статистическим пакетом R-2.0.

Результаты. При оценке иммунограмм оказалось, что статистически значимой разницы у пациенток исследуемой и контрольной групп в изучаемых показателях нет. Имеет лишь место тенденция к снижению абсолютного числа Т-хелперов (CD4+), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8+), увеличению процента естественных киллеров (CD16+), абсолютного числа и процентного содержания В-лимфоцитов (CD22+), росту уровня ИЛ-2-Р (CD25+), титра комплемента и содержания иммуноглобулинов Ig G. Среднее содержание кортизола в крови заболевших было в 1,6 раз выше, чем у здоровых женщин

($p < 0,001$). Из гормонов щитовидной железы уровень тиреоидстимулирующего гормона статистически значимо ($p < 0,001$) повышен у женщин исследуемой группы. Уровень всех половых гормонов (эстрадиол, прогестерон и тестостерон) при РЭ был в 2,7-2,8 раза выше, чем у здоровых женщин, однако статистически значимая разница отмечена в содержании прогестерона ($p < 0,001$) и тестостерона ($p < 0,001$). Высокий уровень прогестерона в крови пациенток с резектабельным РЭ заставляет усомниться в целесообразности дополнительного использования для лечения этой опухоли гормонов прогестеронового ряда. Полученные данные свидетельствуют о нарушениях в обмене тестостерона и прогестерона. Оценка продуктов ПОЛ при РЭ показала, что содержание диеновых конъюгатов и диенкетонов не отличается от этих же показателей в крови здоровых женщин. Уровень малонового диальдегида у пациенток был в 2,2 раза выше, оснований Шиффа – в 2,1 раза ниже, чем в контроле. Содержание витаминов А и Е при РЭ оказалось в 1,9 и 2,0 меньше, чем у здоровых женщин. Разница в уровне витамина Е была статистически значима ($p < 0,05$). Полученные результаты показали, что при РЭ имеет место активация системы ПОЛ и снижение уровня витамина Е.

Выводы. Установлено, что у пациенток с РЭ I стадии по сравнению с женщинами контрольной группы: нет различия между показателями иммунологического статуса ($p > 0,05$); повышены уровни прогестерона и тестостерона ($p < 0,001$); увеличено содержание кортизола ($p < 0,001$); повышена активность большинства показателей ПОЛ ($p < 0,001$); снижено содержание витамина Е ($p < 0,05$); увеличено содержание тиреоидстимулирующего гормона щитовидной железы ($p < 0,001$).

*Литвинова Т.М.¹, Матылевич О.П.³, Моисеева О.Н.², Ясенко Д.М.¹,
Пранович И.М.¹*

Кровотечения при раке шейки матки IIВ-IV стадий и оценка их лечения в учреждениях неонкологического профиля

¹ УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

² Минский городской клинический онкологический диспансер,
г. Минск, Беларусь

³ ГУ «РНПЦ онкологии и медицинский радиологии
им. Н.Н. Александрова», г. Минск, Беларусь

Беларусь по данным «GLOBOCAN-2018» по заболеваемости раком шейки матки (РШМ) среди 185 стран мира занимает 99 место, по смертности – 133. Однако в стране отмечен рост заболеваемости и

смертности от РШМ IIВ-IV стадий. Смертность обусловлена возникающими тяжелыми осложнениями у пациенток, не позволяющими провести химиолучевое лечение в полном объеме. Одним из таких осложнений является кровотечение из опухоли, остановить которое медикаментозными средствами, тампонадой влагалища и даже хирургическим методом практически невозможно. В РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова был разработан метод эмболизации тазовых артерий, эффективность которого составляет 94%. Сотрудники ангиографического кабинета Центра владеют в совершенстве методом рентгеноэндоваскулярной эмболизации различных артерий, в том числе и сосудов таза. Однако в большинстве онкологических диспансеров такая служба отсутствует, что заставляет выполнять эмболизацию при РШМ в клиниках неонкологического профиля, где имеются специалисты, владеющие рентгеноэндоваскулярными методами.

Цель: оценить эффективность эмболизаций артерий таза, выполненных при кровотечении из опухолевоизмененной шейки матки в учреждениях неонкологического профиля.

Материалы и методы. В исследование включено 26 пациенток с обильным кровотечением, находившихся на химиолучевом лечении в Минском городском клиническом онкологическом диспансере. Поскольку в диспансере рентгеноэндоваскулярная служба отсутствует, эмболизацию артерий таза женщинам, имеющим РШМ, проводили врачи 1-й и 9-й клиник, не имеющие онкологической специализации. Материалом для изучения послужили амбулаторные карты и истории болезни. Возраст пациенток варьировал от 25 до 80 лет. В группе преобладали молодые женщины. РШМ IIВ стадии диагностирован у одной (3,8%) женщины; IIВ – 15 (57,8%); IVА – 7 (26,9%); ШМИ – 3 (11,5%). Среди анатомических форм опухоли преобладали смешанные (73%). Эндофитные формы встречались в 16% случаев, экзофитные – в 12%.

Результаты. На I этапе во время обследования в гинекологических клиниках кровотечение было остановлено путем эмболизации сосудов таза у 17 (65,4%) пациенток. Во время химиолучевой терапии, проводимой в Минском городском клиническом диспансере кровотечение возникло еще у 9 пациенток, но остановить его удалось только у 8 (30,8%). Эмболизацию из-за рассыпного типа строения маточных артерий не удалось выполнить одной (3,8%) женщине. В 96,2% случаев тяжелое осложнение было устранено. Рентгеноэндоваскулярные хирурги в 80,8% случаев эмболизировали маточные артерии, в 15,4% внутренние подвздошные и только в 3,8% случаев процедура была безрезультативной. Повторные кровотечения после эмболизации воз-

ники у 3 пациенток, в связи с чем, 2 женщинам пришлось повторить эмболизацию артерий, а одной выполнить ее еще 3 раза, что связано с использованием для процедуры быстрорастворяющихся губок.

Осложнения во время и после эмболизации отсутствовали. Из 26 пациенток, которым было проведено радикальное химиолучевое лечение в течение года, умерло от прогрессирования заболевания 8 (30,8%) человек, еще 2 (7,8%) погибли от других заболеваний, что возможно связано с несвоевременной остановкой кровотечения.

Выводы. Эмболизация артерий сосудов таза с целью остановки кровотечения делается не вовремя, т.к. длительное время врачи гинекологических отделений проводят пациенткам медикаментозную терапию. В учреждениях неонкологического профиля выполняемая хирургами эмболизация по первичной эффективности не отличается от аналогичной процедуры, проводимой в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, но использование губки с коротким сроком действия способствует возникновению повторного кровотечения, что требует выполнения еще одной и более эмболизаций.

*Литвинова Т.М.¹, Церковский Д.А.², Юневич Л.И.², Пранович И.М.¹,
Хорошун М.В.¹*

Влияние операции и брахитерапии на процессы опухолевой прогрессии в эксперименте in vivo

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

²ГУ «РНПЦ онкологии и медицинский радиологии им. Н.Н. Александрова», г. Минск, Беларусь

Брахитерапия используется в лечении рака эндометрия (РЭ), как адъювантный метод при хирургическом вмешательстве. Однако неизвестно, что препятствует метастазированию опухоли, проведение облучения до операции или после нее. Определить это возможно только в эксперименте, чтобы в дальнейшем выбрать оптимальный метод комбинированного лечения РЭ.

Цель: изучить влияние однократного сеанса брахитерапии, выполненного до и после операции, на процессы метастазирования в эксперименте in vivo.

Материалы и методы. В исследование включены 100 мышей линии C57BL со штаммом РЛ-67. Животные были разделены на 8 групп. Контролем служила 1-я группа (30 особей). В остальные группы входило по 10 мышей. Операцию (удаление 2/3 левой конечности с опухолью) выполняли на 5-й, 6-й, 10-й и 11-й дни после перевивки штамма. Во 2-й и 3-й группах животных только оперировали, в 4-й, 5-й и 6-

й – до операции облучали в дозах 13,5 Гр и 10 Гр (аппарат microselectron-HDR, радионуклид Jr^{192}), в 7-й и 8-й – после операции облучали дозой 8 Гр. Число метастазов в легких подсчитывали после гибели мышей.

Противометастатический эффект определяли по частоте метастазирования (ЧМ), общему и среднему числу метастазов (ОЧМ, СЧМ), степени поражения легких (СПЛ), индексу торможения метастазирования (ИТМ) и частоте локальных рецидивов (ЧЛР).

Статистическую обработку выполняли с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Excel» и «Origin Pro 7.0».

Результаты. В контрольной группе мышей ЧМ составила 100%, ОЧМ – 376, СЧМ – $12,4 \pm 2,6$; ИТМ был равен 0, а I СПЛ составила 40%, II – 23%, III – 17%; ЧЛР соответствовала 100%. Эффективность операции зависела от размеров опухоли, которая на 5 сутки после перевивки была 3-4 мм, на 10-е – 5-8 мм. Во второй группе ИТМ был равен 100%, все остальные показатели – 0. Удаление опухоли на 10-е сутки после перевивки увеличило ЧМ до 20%; ОЧМ – до 8; СЧМ – до $0,8 \pm 0,6$; ИТМ снизился до 98,4; I СПЛ составила 20%; ЧЛР – 70%. В 4-й группе мышей (облучение в 13,5 Гр + операция) ЧМ была равна 28,6%; ОЧМ – 11; СЧМ – $1,6 \pm 1,1$; ИТМ – 95,5%; I СПЛ – 29%; ЧЛР – 75%. Все животные 5-й группы после облучения и операции погибли. В 6-й группе ЧМ составила 80%; ОЧМ – 29; СЧМ – $5,8 \pm 2,0$; ИТМ – 62,7%. В легких обнаружена только I степень поражения (80%); ЧЛР составила 60%. После операции и облучения мышей в дозе 8 Гр установлено, что метастазов в легких не было, ИТМ составил 100%, ЧЛР – 20%, остальные показатели были равны 0. Выполнение операции на 10-е сутки с облучением в дозе 8 Гр увеличило ЧМ до 80%; ОЧМ – до 79; СЧМ – $7,9 \pm 3,5$. ИТМ составил 49,2%; I СПЛ отмечена в 20%, II степень – 30%, ЧЛР была равна 60%. Данные всех исследуемых групп, кроме 8-й, статистически значимо отличались от результатов контрольной группы.

Выводы. Операция при размерах опухоли 3-8 мм позволяет предотвратить развитие метастазов. Облучение в дозе 10 Гр за сутки до операции при размерах опухоли >5 мм более выражено угнетают процессы метастазирования, чем брахитерапия в дозе 8 Гр после операции.

*Лопатина Н.Г.¹, Зачепило Т.Г.¹, Сурма С.В.¹, Дюжикова Н.А.¹,
Стефанов В.Е.², Щёголев Б.Ф.¹*

**Пищевая и когнитивная активность медоносной пчелы
в условиях меняющегося магнитного поля Земли**

¹Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург,
Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет,
г. Санкт-Петербург, Россия

Разнообразные техногенные влияния внешней среды, изменяющие параметры естественного магнитного поля (МП) Земли, могут оказывать влияние на здоровье человека и животных, и требуют всестороннего изучения. Медоносная пчела – адекватный модельный организм для изучения функциональных и молекулярно-клеточных основ когнитивных процессов – обладает сложной условно-рефлекторной деятельностью и относительно просто устроенной ЦНС.

Для оценки влияния магнитных полей на память пчелы использовали условный пищевой рефлекс вытягивания хоботка на обонятельный стимул. Исследования проводили на рабочих 7-30-дневных особях медоносной пчелы в летний период 2018 года (Колтуши, Ленинградская область, Россия, экспериментальная комната, 20-25°C). Для создания условий ослабления магнитного поля Земли (ОМП) использовали цилиндрическую экранирующую камеру с покрытием из аморфного магнитомягкого материала АМАГ-172, что обеспечило уменьшение величины индукции магнитного поля Земли внутри камеры с 45 мкТл (Колтуши) до 0,1 мкТл внутри камеры. Для создания условий усиления магнитного поля Земли (УМП) использовались 2 кольцевых магнита, расположенных по одной оси друг напротив друга, так что в месте помещения пробирки с 7 пчелами индукция суммарного МП составляла 200 мкТл (магнитометры НВ0302.1А (0.1–100 мкТл), НВ0305.2А (10 мТл и 100мТл) ООО “Магнитные приборы”, Россия). Пчел изолировали из улья в пробирки (2 опытные – УМП, ОМП; 2 контрольные – интактные, имитация экранирующей камеры) с кормом. Опытные группы подвергали воздействию магнитного поля в течение 12 часов (20.00–8.00, темновая фаза циркадного ритма). Далее у пчел изымали корм, помещали на 1 час в условия с нормальным уровнем магнитного поля. Интактные пчелы находились 13 (12+1) часов вне улья в такой же пробирке, но не подвергались воздействиям. Процедура обучения (выработка условного рефлекса): однократно сочетая запах гвоздики с пищевым подкреплением (50% раствор сахара), проверяли сохранение рефлекса в кратковременной (через 1 мин после обучения) и долговременной (через 180 мин после обучения) памяти, предъявления

условный раздражитель. До обучения проверяли сенсорную (спонтанную реакцию пчел на запах) и пищевую (безусловно-рефлекторная пищевая реакция) возбудимость.

Двенадцатичасовое пребывание в условиях ОМП резко снизило число пчел, отвечающих условной пищевой реакцией на запах гвоздики через 1 мин. Стимулирующее влияние было выявлено в группе УМП. Контрольные группы пчел не различались. Сохранение условного рефлекса в долговременной памяти ухудшалось в обеих группах (ОМП, УМП) по сравнению с контролем. Проведенные эксперименты не выявили каких-либо изменений обонятельной и пищевой возбудимости у пчел после двенадцатичасового ослабления / усиления статического магнитного поля Земли. В то же время, ОМП повлияло на пищевую активность пчел: меньше всего подъеденного корма оказалось в этой группе. Двенадцатичасовое ОМП оказало влияние на когнитивную деятельность пчелы, ингибируя и кратковременную, и долговременную память. Действие УМП Земли оказалось разнонаправленным: стимулирующим кратковременную, и ингибирующим долговременную память. Полученные данные демонстрируют чувствительность когнитивной активности пчел к изменению МП Земли и требуют изучения молекулярных механизмов этих феноменов.

Интересно отметить, что подобные нарушения кратковременной памяти в условиях ОМП были получены Никитиной с соавторами (2017) у дрозофилы. Вероятно, что подобные нарушения кратковременной памяти в условиях ОМП могут наблюдаться и у млекопитающих (неадекватные реакции, потеря ориентации, чувство страха).

Лукьяница В.В.

Квазихимические реакции молекул воды, стимулированные электромагнитными полями

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Вода составляет 65-70% общей массы тела взрослого человека. При чем такая интегрирующая среда для всего организма как кровь на 95% состоит из воды. Являясь уникальным растворителем, она влияет не только на интенсивность физиологических процессов, протекающих в организме, но и на его устойчивость при воздействии окружающей среды. Однако механизмы такого воздействия до сих пор до конца не выяснены. При этом возникает вопрос: а что происходит с самой водой?

С другой стороны, в настоящее время электромагнитные поля не только присутствуют в окружающей человека среде, но и широко

применяются в медицине в лечебных (физиотерапия) и диагностических целях. Все это и определяет актуальность данной работы.

Целью работы является исследование характера влияния электромагнитных полей на взаимодействие молекул воды.

Объектом исследования была дистиллированная вода, которая подвергалась воздействию переменными электрическими, магнитными и электромагнитными полями.

Результаты получены из оптических и микроскопических измерений. Измерялись и анализировались спектральные и временные зависимости изменения оптической плотности воды по мере увеличения дозы (времени) воздействия электромагнитными полями. Кроме того, проводился сравнительный анализ микрофотографий структуры замороженной воды, предварительно прошедшей обработку различными электромагнитными полями и без такой предварительной обработки (контрольные образцы). Как оказалось, замораживание воды позволяет визуализировать изменение ее структуры при внешних воздействиях.

Установлено, что в результате воздействия на воду электрическим полем аппарата УВЧ-терапии в зависимости от геометрии опыта наблюдались молекулярные ассоциации с размерами 20-35 и 65-100 мкм, имеющие пирамидальный вид с четырех и шестигранными основаниями, а также более крупные веретенообразные и шарообразные структурные дефекты (700-1200 мкм).

Под действием электромагнитного излучения аппарата КВЧ-терапии среди прочих дефектов структуры формировались цепочки ассоциации молекул воды, каждый элемент которых имел размеры 12-36 мкм. Под действием лазерного излучения наблюдались молекулярные домены (кластеры) с размерами 13-20 мкм (полупроводниковый лазер) и 64-162 мкм (гелий-неоновый лазер). При этом обнаружено, что структурные изменения воды сопровождаются немонотонными изменениями ее оптической плотности, что свидетельствует о дефектных перестройках в процессе воздействия.

Установлено, что при воздействии переменным магнитным полем аппарата магнитотерапии АМТ-01 изменение оптической плотности воды проходит через минимум при временах воздействия около 5 мин. Причем эти изменения сохраняются в течение более получаса, что указывает на образование сильных (ковалентных) связей.

Полученные результаты интерпретированы с единой точки зрения, согласно которой воздействие на воду электромагнитными полями стимулирует (катализирует) межмолекулярное взаимодействие, в том числе с образованием ковалентных связей, приводящее к изменению

структуры воды, которое регистрируется на опыте в виде образования кластеров различной формы и размеров.

Как известно, свойства вещества в большинстве случаев определяются его структурой. Ярким примером этого является углерод, который в зависимости от своей структуры может наблюдаться в виде угля, графита или алмаза. С учетом этого весьма перспективно найти способ для целенаправленного структурирования организменной воды под определенное заболевание, которое и нарушило эту структуру. Другими словами, речь идет о восстановлении первоначальной водной структуры, которая, как предполагается, и обеспечит переход (возврат) организма в здоровое состояние. Приведенные в данной работе результаты могут послужить основой для дальнейших исследований в этом направлении.

Таким образом, установлено наличие в воде межмолекулярного взаимодействия под воздействием магнитных и электрических полей, а также электромагнитных излучений. В результате такого взаимодействия формируются крупноразмерные кластеры молекул воды, изменяющие ее структуру.

Лукьяница В.В.

**Новая гипотеза формирования клеточной структуры
живого вещества при зарождении жизни на Земле**

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Одним из основных положений клеточной теории является утверждение (постулат), что клетки могут рождаться только из клеток. Но как появились первые клетки, получившие название протоклеток? Считается, что именно протоклетки разделяют химическую эволюцию и эволюцию биологическую, т.е. являются переходным звеном от первой ко второй. При этом критическим моментом такого перехода является появление у протоклеток оболочек, которые впоследствии модифицировались в клеточные мембраны. При этом отсутствует общепринятая точка зрения на процесс образования как оболочек (мембран), так и отдельных клеток, а также клеточного строения живого вещества в целом. Причем существующие теории этого вопроса противоречат друг другу. Поэтому новые исследования в этом фундаментальном направлении являются актуальными.

Обратимся во времена (около 4 млрд лет назад) формирования протоклеток, когда на Земле была вода, а ее атмосфера почти не содержала свободного кислорода. При этом во Вселенной присутствовало открытое недавно так называемое реликтовое излучение, имеющее электро-

магнитную природу с максимумом энергетической плотности, приходящимся на крайне высокие частоты (КВЧ-диапазон).

В связи с этим целью данной работы является исследование влияния КВЧ-излучения на воду и образование в ней крупномасштабных ассоциаций молекул воды при их квазихимических реакциях.

Объектом исследования была дистиллированная вода, которая помещалась в чашки Петри диаметром 35 мм. Воздействие на воду осуществлялось переменным электромагнитным полем КВЧ диапазона с помощью аппарата «Прамень» ($f = 53,5$ ГГц) в течение от 1 до 90 мин. при выходной мощности 30 мВт. Для обнаружения и визуализации структурных изменений воды использовался метод ее замораживания при температуре -23 °С с последующим микрофотографированием и измерением образующихся структур. Посредством изменения фокусировки микроскопа получены снимки не только на поверхности, но и в глубине замерзшей воды. Микроснимки были сделаны с увеличением 8×7 и затем обрабатывались на компьютере с помощью специальной программы контрастирования «ACDSee Pro2».

Наиболее важный результат состоит в том, что под действием КВЧ-облучения изменяется структура воды, которая с увеличением времени облучения (экспозиции) претерпевает существенное усложнение. Обнаружено, что при временах экспозиции 60 и 90 мин под поверхностью замерзшей воды образуются крупномасштабные структурные «дефекты». Формируется единая (практически на весь образец) крупноразмерная объемная матрица, имеющая вид пчелиных сот или близко расположенных ячеек разного размера. По своему строению эта матрица практически аналогична клеткам живого вещества, наблюдаемых под микроскопом на тонких срезах образцов растений или животных.

Вся совокупность полученных результатов может быть интерпретирована следующим образом. На начальных этапах КВЧ-облучения в воде формируется крупномасштабные, преимущественно шестигранные, ассоциации молекул воды, которые становятся источниками электростатического поля, обусловленного сложением дипольных молекул воды, входящих в состав ассоциаций. При дальнейшем облучении отдельные ассоциации молекул перестраиваются в сплошную объемную матрицу, расположенную вблизи поверхности воды. Это явление, скорее всего, связано с синергетическим поведением системы, к которой подводится энергия в виде КВЧ-излучения.

На основании полученных результатов можно предложить **гипотезу**, согласно которой образовавшаяся матрица, разделенная внутри на плотно упакованные ячейки (клетки), которые в свою очередь имеют

размерные границы (оболочки), и является водным и одновременно полевым каркасом будущего клеточного строения живого вещества. Для этого достаточно наполнить этот каркас (матрицу) необходимыми химическими веществами. В ходе дальнейшей химической эволюции ячейки матрицы превратятся в живые клетки, а границы ячеек – в их мембраны. Другими словами, можно говорить о «матрице жизни», которая служит прообразом (в том числе и в виде полевого каркаса) клеточного строения живой материи. Кстати говоря, в настоящее время обсуждается вопрос о наличии полевого каркаса (строительного плана) даже у генома.

Макаревич К.О.

Сравнение доз облучения пациентов мужского и женского пола при рентгенологических исследованиях

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Цель. Оценка и контроль доз облучения пациентов всегда являлись важной и актуальной задачей. Сложность данной задачи заключается в том, что дозы облучения зависят от многих факторов, в частности, от антропометрических параметров и пола пациента. Целью данной работы является выявление и анализ влияния различий в конституции мужского и женского тела на величины дозовых нагрузок.

Материалы и методы. Проведено Монте-Карло моделирование переноса рентгеновского излучения внутри референтных фантомов мужчины и женщины [1]. В качестве источника излучения использована модель рентгенодиагностического аппарата, представленная в [2]. Значения дозовых нагрузок на критические органы и ткани определены по алгоритму, описанному в [3].

Результаты и обсуждение. При исследовании легких в РА проекции при значении напряжения 80 кВ и фильтрации 3 мм Al эквивалентная доза в легких женского фантома на 70% превышает значение эквивалентной дозы в легких мужского фантома. При этом эквивалентная доза для молочной железы женского фантома в 3 раза превышает значение для молочной железы мужского фантома из-за экранирования костями грудной клетки.

Если рассмотреть облучение в AP проекции и сравнить дозовые нагрузки для органов, которые попадают в прямое поле облучения и не экранируются скелетом либо торсом пациента, то в этом случае расхождения не так велики. Например, при исследовании шейного отдела позвоночника эквивалентная доза, определенная для щитовидной железы женского фантома, превышает эквивалентную дозу для щитовидной железы мужского фантома максимум на 4% (напряжение

70 кВ, фильтрация 0 мм Al). При увеличении средней энергии спектра (с увеличением величины напряжения и фильтрации) данное расхождение уменьшается до 2% (напряжение 80 кВ, фильтрация 5 мм Al). При исследовании ребер в AP проекции конверсионный коэффициент, рассчитанный для легких мужского фантома, превышает конверсионный коэффициент, определенный для легких женского фантома на величину до 6% (напряжение 80 кВ, фильтрация 0 мм Al). Это объясняется частичным экранированием легких женского фантома жировой тканью груди женского фантома.

Выводы. В большинстве случаев дозовые нагрузки, рассчитанные для фантома женщины, превышают величины, полученные для фантома мужчины. Во-первых, это объясняется тем, что органы женского фантома меньше по размеру по сравнению с органами мужского. В результате, при одном и том же размере поля облучения может получиться, что большее число органов женского фантома попадет в прямое поле облучения. Во-вторых, при достаточно близких значениях поглощенной энергии в мужских и женских органах, доза оказывается большей для женских органов ввиду их меньшей массы. С увеличением средней энергии рентгеновского спектра наблюдается уменьшение относительной разницы между получаемыми значениями за счет сближения глубинных распределений поглощенной энергии в фантомах.

Литература

1. ICRP 2009. Adult Reference Computational Phantoms. ICRP Publication 110 // Ann. ICRP. – 2009. – Vol. 39, № 2.
2. Makarevich, K. X-ray source model for modern diagnostic X-ray sets / K. Makarevich, V. Minenko, S. Kuten // Materials, Methods & Technologies. – 2017. – Vol. 11. P. 370-377.
3. Макаревич, К.О. Дозовые конверсионные коэффициенты для внешнего фотонного облучения / К.О. Макаревич, В.Ф. Миненко, С.А. Кутень // Журнал Белорусского государственного университета. Физика. – 2019. – №1. – С. 88-96.

Малах О.Н., Крестьянинова Т.Ю.

Протекторный эффект гипобарической гипоксии при радиоактивном поражении организма

УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»,
г. Витебск, Беларусь

Несмотря на обширные исследования, радиобиологи не достигли единого представления о механизме действия химических радиопротекторов, что является следствием ограниченности современных познаний о развитии радиационного поражения при поглощении энергии ионизирующего излучения живыми организмами. Следует отметить протекторный эффект гипоксии при радиоактивном поражении организма, однако отсутствуют сведения о применении гипобарической

гипоксии при данном поражении. В связи с этим целью исследования было изучить влияние предварительной гипобароадаптации на организм экспериментальных животных при радиоактивном воздействии. Эксперимент проведен на взрослых белых беспородных крысах массой 150-200 г, которые были разделены на 4 группы: 1-я группа – контрольные животные; 2-я группа – подопытные, адаптированные в течение 6 дней в барокамере на высоте 6000 м над уровнем моря к действию гипоксии; 3-я группа – подопытные животные, подвергшиеся радиоактивному воздействию; 4-я группа – подопытные, адаптированные в течение 6 дней в барокамере на высоте 6000 м над уровнем моря к действию гипоксии и на 7-й день подвергшиеся радиоактивному воздействию. Гипобароадаптация осуществлялась в барокамере на высоте 6000 м над уровнем моря. В 1-й день длительность сеанса адаптации составляла 10 мин, на 2-й – 20, на 3-й – 30 мин, 4-5-й – перерыв, на 6-й – 10 мин, на 7-й – 20 мин, на 8-й – 30 мин. Экспериментальным радиоактивным воздействием было однократное гамма-облучение в дозе 1Гр (мощность облучения 3,24 Гр в час) при помощи установки «Агат-Р».

При адаптации к гипоксии возрастает содержание углеводов ресурсов, так как они способны продуцировать энергию, как при наличии кислорода, так и без него путем анаэробного гликолиза. Так, концентрация глюкозы в сыворотке крови после курса гипобароадаптации на высоте 6000 м составляла $9,86 \pm 0,89$ ммоль/л, что было выше на 76%, чем в контроле, где концентрация была $5,59 \pm 0,1$ ммоль/л ($p < 0,001$). После радиоактивного воздействия содержание глюкозы в сыворотке крови составляло $9,24 \pm 2,17$ ммоль/л, что было выше на 39,5%, чем в контроле. Следует отметить, что при сравнении групп, которые подверглись влиянию разных стрессоров (гипобароадаптация на высоте 6000 м и воздействие радиации), различия данного показателя не являются достоверными. Таким образом, изменения углеводного обмена после адаптации к гипоксическому воздействию сходны с таковыми при радиоактивном поражении и выражаются в повышении уровня глюкозы. Причем значительное увеличение данного показателя наблюдается после курса гипобароадаптации на высоте 6000 м. В сыворотке крови животных, предварительно адаптированных к гипоксии и затем подвергшихся радиоактивному воздействию, содержание глюкозы повысилось на 78,1% и составило $7,16 \pm 1,32$ ммоль/л. Вместе с тем различия данного показателя по сравнению с животными с радиоактивным поражением являются недостоверными.

Пигментообразующая функция печени характеризуется динамикой уровня билирубина. Так, после адаптации к гипоксии на высоте 6000 м

содержание данного показателя составляло $1,25 \pm 0,13$ мкмоль/л, что превосходило аналогичный показатель контрольной группы в 3 раза, где концентрация была $0,42 \pm 0,01$ мкмоль/л ($p < 0,001$). Однако не обнаружена достоверность различия этого показателя в группах адаптированных животных. Содержание билирубина после радиоактивного воздействия составляло $0,89 \pm 0,49$ мкмоль/л, что было в 2 раза больше, чем в контроле и 1,5 раза меньше, чем у животных, адаптированных к гипоксии соответственно. Предварительная адаптация к гипоксии вызывала достоверное повышение уровня билирубина на 52,5% ($p < 0,001$), с $0,42 \pm 0,01$ мкмоль/л в контроле до $0,80 \pm 0,43$ мкмоль/л. Вместе с тем данный показатель был ниже на 10,1% по сравнению с неадаптированными животными, что свидетельствует о положительном влиянии предварительной гипобароадаптации на пигментобразующую функцию печени.

Таким образом, при адаптации к гипоксии в условиях искусственного нежилого высокогорья динамика метаболических показателей, характеризующих углеводный обмен ближе по своему характеру к изменениям, возникающим при радиоактивном воздействии. Предварительная адаптация к гипобарической гипоксии снижает выраженность метаболических изменений у крыс с радиоактивным поражением, что проявляется в повышении содержания глюкозы и понижении уровня билирубина.

*Малашко В.В.¹, Тумилович Г.А.¹, Сукач В.Л.¹, Шенгаут Л.-Д.¹,
Анишкявичюс М.², Латвис В.², Шенгаут Я.², Малашко Д.В.³*

**Ультроструктурные и биохимические изменения в мышцах
животных при воздействии лазерным излучением**

¹УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Беларусь

²Jakovo veterinarijos centras, Vilnius, Lithuania

³Белорусская государственная сельскохозяйственная академия,
г. Горки, Беларусь

Выявление структурных механизмов, лежащих в основе бесконечного многообразия локомоторных актов, присущих высшим организмам и отражающих процессы адаптации, важно не только с общебиологической, но и с практической точки зрения. В последние годы большое внимание уделяется количественной оценке субмикроскопического строения мышечных волокон, как одному из наиболее важных критериев, характеризующих их функциональный профиль, изучению количественного соотношения различных мышечных волокон в скелетных мышцах.

Несомненный интерес представляет исследование структурных и физиологических основ скелетных мышц, связанных с образом жизни животного, постоянным воздействием на него различных факторов среды и клинического состояния животного. Изучена функционально-ультраструктурная организация скелетных мышц телят под воздействием низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ). Облучение лазером «Люзар – МП» длиннейшей мышцы спины у телят 10-12-дневного возраста проводили контактно-сканирующим методом, при мощности светового потока – 120-140 мВт/см².

Под влиянием лазерного облучения наблюдается увеличение содержания в мышце лизина – на 56,9% ($P<0,05$) и лейцина – на 30,5% ($P<0,01$, метионина – на 44,9% ($P<0,05$), триптофана – на 30,8% ($P<0,05$), треонина – на 56,1% ($P<0,01$) и пролина – на 18,5% ($P<0,05$) по отношению к контролю. Ультраструктурные изменения в длиннейшей мышце спины сопровождаются увеличением относительного объема митохондрий – на 11,4%, количества профилей митохондрий на 10 мкм² ультрасреза – на 23,4% ($P<0,05$), относительный объем саркоплазматической сети достигает в опыте – 4,28%, в контроле – 3,83% и количество гранул гликогена на единицу среза выше в 2,1 раза в сравнении с контрольными данными. Увеличение относительного объема митохондрий и саркоплазматического ретикулума указывает на адаптационные изменения, перестройку энергетического и сократительного аппарата мышечных волокон. Митохондрии полиморфны, встречаются с длиной в 2-3 саркомера, с небольшими перетяжками в области Z-линий. Кристы у некоторых митохондрий имеют дугообразное или круговое расположение. Адаптация соматической мускулатуры к стимулирующему воздействию НИЛИ сопровождается увеличением объема саркоплазмы, массы сократительных структур мышечных волокон – миофибрилл. По ходу мышечных волокон в опытных образцах выявляются микрочапки и микровыросты, в саркоплазме которых наблюдается большое скопление митохондрий. Адаптивные процессы в мышечных волокнах включают различные метаболические реакции, как самого многоядерного волокна, так и пролиферацию миосателлитов. За счет миосателлитов происходит восстановление, увеличение количества ядер мышечного волокна и активизация синтезирующего потенциала ультраструктурных компонентов.

Молекулярно-биологические нарушения при стенокардии напряжения

Международный государственный экологический институт
им. А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета,
г. Минск, Беларусь

Цель: изучить молекулярно-биологические нарушения при стенокардии напряжения.

Стенокардия часто является причиной моментальной смерти или инфаркта миокарда с различными осложнениями. От стенокардии страдают 65% мужчин и 35% женщин. Это объясняется особенностями женского организма: у женщин эластичность сосудов до менопаузы предопределена действием особенных гормонов – эстрогенов, которые имеют антиатеросклеротическое действие. Однако после менопаузы риск заболевания становится таким же, как и у мужчин. В патогенезе ишемической болезни сердца важную роль играет генетическая предрасположенность, которая с факторами окружающей среды может обуславливать нарушение регуляции различных биохимических процессов, приводящих к развитию данного заболевания. Один из факторов риска развития ишемической болезни сердца – изменение в работе антиоксидантной системы, маркерами нарушения которой являются продукты перекисного окисления липидов и некоторые ферменты. Их генетический дефект ведет к изменению активности ферментов и нарушению работы антиоксидантной защиты. Патогенетические факторы и механизмы дисрегуляции работы антиоксидантной системы при ишемической болезни сердца с различным клиническим течением еще недостаточно исследованы, так как фенотипическое проявление генетического полиморфизма в значительной мере зависит от генофонда и условий жизни конкретной популяции. Основными аполипопротеинами плазмы крови являются apoA-I, A-II, A-IV, A-V, apoB-48, B-100, apoC-I, C-II, C-III, apoE, apoD и apo (α). Нарушения в генах, кодирующих апобелки, могут приводить к изменению липидного профиля в сторону атерогенности. Изучено влияние полиморфных вариантов генов apoA-I, A-IV, A-V, apoC-III и apoE, а также липопротеинлипазы и белка – переносчика эфиров холестерина на развитие гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии и других нарушений липидного обмена, их роль в детерминации риска ишемической болезни сердца. Атерогенный фенотип характеризуется повышенным уровнем липопротеинов низкой плотности в плазме крови; повышенным уровнем липопротеинов, содержащих триглицериды,

снижением уровня липопротеинов высокой плотности, 3-кратным повышением риска развития инфаркта миокарда.

Ангиотензин превращающий фермент гидролизует ангиотензин I в ангиотензин II – альдостерон-стимулирующий пептид, и в то же время он инактивирует брадикинин. Повышенный уровень АПФ через продукцию ангиотензина II и брадикинина способствует развитию атеросклероза, тромбоза и супрессирует эндогенную фибринолитическую функцию.

Генотипы DD гена АПФ, H+/- гена ЛПЛ и E3E4 увеличивают вероятность развития инфаркта миокарда у пациентов с ИБС и могут рассматриваться в качестве маркеров высокого риска.

Аллель А полиморфного варианта C3123A связана с риском развития артериальной гипертензии. У варианта G1675A выявлена связь с хронической сердечной недостаточностью, а также с эссенциальной гипертензией у мужчин, тогда как у полиморфного варианта G4599A обнаружена связь в развитии эссенциальной гипертензии у женщин. В гене eNOS3 выявлено несколько полиморфных сайтов.

Полиморфизм 4a/4b в пятом интроне, полиморфизм промоторной области гена – 786T>C и структурная замена в 7 экзоне 894G>T (Glu298Asp), приводящая к замене глутамата на аспарат в 298 положении в аминокислотной последовательности белка связан с высоким риском стенокардии.

Полиморфизм в интроне 4 представлен двумя аллелями – b (4b), состоящими из 5 повторяющихся фрагментов 27bp, и аллелем a (4a), в котором только 4 таких повтора, что ассоциировано с развитием сердечной недостаточности.

Мартусевич А.К.^{1,2}, Ковалева Л.К.³, Мартусевич А.А.², Голыгина Е.С.¹

Патогенетическое обоснование синглетно-кислородной терапии при экспериментальной термической травме

¹Приволжский исследовательский медицинский университет,
г. Нижний Новгород, Россия

²Ассоциация российских озонотерапевтов, г. Нижний Новгород,
Россия

³Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар,
Россия

Целью исследования явилось изучение динамики кристаллогенных свойств сыворотки крови крыс при проведении курса ингаляций синглетного кислорода в послеожоговом периоде.

Материал и методы исследования. Эксперимент был выполнен на 30 половозрелых крысах линии Вистар, разделенных случайным обра-

зом на две равные по численности группы. Первая группа (n=10) была интактной, животным, включенным в нее, не проводили никаких манипуляций, а производили лишь однократное получение крови из подъязычной вены.

Животным 2 (контрольной) и 3 (основной) групп под комбинированным наркозом («Золетил» + «Ксила») наносили термическую травму по собственной методике, осуществляли стандартное местное лечение. Начиная со следующего за нанесением травмы дня, крысам основной группы в течение 10 дней ежедневно проводили ингаляции воздушного потока, поступающего от генератора синглетного кислорода. Для создания газовой смеси, включающей синглетный кислород, использовали аппарат «Airnergy Professional Plus» (Германия). Продолжительность каждой процедуры - 10 минут. Мощность генератора – 100%. На следующий день после завершения полного курса ингаляций у крыс данной группы производили получение образцов крови для исследования. В аналогичные сроки забирали кровь и у животных 2 группы. Сыворотку крови в объеме 100 мкл наносили на предметное стекло и приготавливали микропрепараты высушенной биологической жидкости в соответствии с методом кристаллоскопии. Высушенные микропрепараты оценивали с применением собственной системы параметров. Статистическая обработка результатов произведена с помощью программы Statistica 6.1 for Windows.

Результаты. Проведение курса ингаляционной терапии существенно снижает выраженность патологических сдвигов кристаллогенных свойств сыворотки крови крыс. Следует подчеркнуть, что изучаемое воздействие способствовало нормализации всех основных оценочных показателей, причем они статистически значимо отличались как от уровня, характерного для крыс с термической травмой, так и от уровня здоровых животных ($p < 0,05$ для всех случаев). Это косвенно указывает на реадaptивные возможности тестируемого метода метаболической коррекции нарушений, имеющих место в послеожоговом периоде.

Аналогичный характер изменений фиксировали при анализе результатов сокристаллизации сыворотки крови животных с базисным веществом, оцениваемых в тезиграфическом тесте. В этом случае у получивших термическую травму крыс также наблюдали выраженное угнетение инициаторных свойств биосреды по сравнению с интактными животными, о чем свидетельствовало существенное снижение уровня тезиграфического индекса и кристалличности фаций ($p < 0,05$ для обоих показателей). Кроме того, присутствовало нарастание сте-

пени деструкции элементов образца в сочетании с уменьшением размера краевой зоны микропрепарата ($p < 0,05$).

Критериальная оценка тезиграмм сыворотки крови животных основной группы, получивших курс ингаляций синглетного кислорода после нанесения термической травмы, полностью соответствовала результатам кристаллоскопического исследования, т. к. по всем главным показателям отмечали статистически значимое приближение к значениям, характерным для интактной группы. Наиболее выраженной указанная тенденция была в отношении кристалличности образцов и выраженности краевой зоны, что может косвенно свидетельствовать о снижении степени тяжести присутствующей у животных эндогенной интоксикации, а также существенной нормализации белкового профиля крови. Следует подчеркнуть, что второй из приведенных параметров после курса ингаляций синглетного кислорода обнаруживался лишь незначимо сниженным по сравнению со здоровыми животными ($p < 0,1$). При этом высокая выраженность дизметаболических сдвигов, индуцированных нанесенной крысам сочетанной термической травмы, способствовала сохранению в значительной степени сниженного уровня тезиграфического индекса, а также умеренной тенденции к оптимизации степени деструкции фаций после проведенного курса лечения, дополненного ингаляционным применением синглетно-кислородной газовой смеси.

Заключение. В целом, данные морфологической и визуаметрической оценки кристаллограмм и тезиграмм сыворотки крови крыс указывают на позитивное влияние ингаляций синглетного кислорода на эти физико-химические показатели.

*Мартусевич А.К.^{1,2}, Ковалева Л.К.³, Шумаев К.Б.⁴, Краснова С.Ю.¹,
Гольгина Е.С.¹*

**Биорадикальный гомеостаз: трансформация представлений
о свободнорадикальной биомедицине и базис для создания
инновационных лечебных технологий**

¹Приволжский исследовательский медицинский университет,
г. Нижний Новгород, Россия

²Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород, Россия

³Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар,
Россия

⁴ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва, Россия

В настоящее время представления об окислительном (оксидативном) стрессе вышли далеко за рамки свободнорадикальной биологии, найдя применение практически во всех областях медицины. Развиваются

знания и о других возможных дизметаболических нарушениях, в частности, ассоциированных с изменением уровня токсичных для биомолекул азотсодержащих и хлорсодержащих радикалов. Эти состояния получили название нитрозилирующего (нитрозативного) и галогенизирующего стресса соответственно.

С другой стороны, приведенные выше результативные (вызывающие заболевания или патологические состояния) сдвиги концентраций радикалов кислорода, азота и галогенов рассматриваются изолированно. В то же время в отечественной и зарубежной литературе имеется значительное количество данных, свидетельствующих о взаимосвязи метаболизма указанных молекул. Следовательно, представляется целесообразным анализировать процессы, протекающие с участием кислородных, азотных и галогенсодержащих радикалов, в рамках единого фрагмента метаболизма.

На основании критического анализа сведений тематической литературы, а также результатов собственных экспериментальных исследований нами в качестве гипотезы выдвинуто понятие «биорадикальный стресс», понимаемый нами как результативное (приводящее к негативному изменению функционально-метаболического статуса организма) нарушение физиологического уровня свободно-радикальных процессов, связанных с образованием активных форм кислорода, азота или галогенов и/или снижением активности систем, ограничивающих их повреждающее действие. С учетом этого, биорадикальный стресс объединяет в себе все известные синдромы, ассоциированные со сдвигами уровня биорадикалов – окислительный, нитрозативный и галогенизирующий стресс.

Дополнительно обосновывает целесообразность выделения предлагаемого интегративного понятия одновременное присутствие более чем одного компонента биорадикального стресса у одного и того же пациента или животного.

Диагностика наличия биорадикального стресса должна складываться из определения его отдельных компонентов:

- 1) интенсификации липопероксидации на фоне угнетения антиоксидантных резервов (компонент окислительного стресса);
- 2) повышения маркеров нитрозативного стресса (в частности, 3-нитротирозина);
- 3) нарастания активности миелопероксидазы и иных параметров, визуализирующих галогенизирующий стресс.

Присутствие хотя бы двух их указанных компонентов свидетельствует о наличии биорадикального стресса.

При этом для получения комплексной характеристики ответа организма на формирование биорадикального стресса используются как их специфические маркеры, так и неспецифические функционально-метаболические критерии. С учетом того, что концепция исследования предполагает рассмотрение биорадикального стресса как совокупности трех основных взаимодействующих компонентов – окислительного, нитрозативного и галогенизирующего, исследование будет включать их определение их специфических маркеров:

- диагностика окислительного стресса основывается на изучении интенсивности процессов липопероксидации в плазме крови в совокупности с общей антиоксидантной активностью плазмы;
- выявление нитрозативного стресса основано на определении уровня 3-нитротирозина плазмы, а галогенизирующего – активности миелопероксидазы.

Введение понятия о биорадикальном стрессе предполагает изучение эффективности различных вариантов специфической патогенетической коррекции биорадикального стресса (введение антиоксидантов, направленная стимуляция антиоксидантной емкости активными формами кислорода, использование регуляторных свойств NO и др.). Исследование частично поддержано РФФИ (грант 19-015-00444).

Мартусевич А.К.¹, Краснова С.Ю.¹, Голыгина Е.С.¹, Галка А.Г.^{1,2}

Оценка системных эффектов гелиевой холодной плазмы

¹Приволжский исследовательский медицинский университет,
г. Нижний Новгород, Россия

²Институт прикладной физики РАН, г. Нижний Новгород, Россия

Цель исследования - изучение действия холодной гелиевой плазмы на параметры окислительного метаболизма и кристаллогенную активность плазмы крови крыс.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 20 половозрелых крысах-самцах линии Вистар (масса тела – 200-250 г.), разделенных на 2 группы. Первая (контрольная) группа животных (n=10) была интактной, с ними не проводили никаких манипуляций, кроме однократного получения образцов крови. Животным второй (основной) группы (n=10) проводили курс, включавший 10 ежедневных процедур обработки предварительно эпилированного участка кожи спины (площадь – 10% поверхности тела) потоком гелиевой холодной плазмы. Продолжительность каждой процедуры составляла 1 мин. Получение холодной плазмы производили с помощью специальной установки, использующей принцип СВЧ-индуцированной ионизации газового потока и разработанной в Институте прикладной физики РАН (г. Нижний

Новгород). В качестве газа-носителя плазмы использовали баллонный гелий марки А.

В плазме крови крыс обеих групп методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции определяли максимальную фотовспышку хемилюминесценции ($I_{\max}$). Измерения проводили на аппарате БХЛ-06 (фирма «Медозонс», Нижний Новгород). Уровень малонового диальдегида (МДА) в плазме крови оценивали по методу В.Г. Сидоркина, И.А. Чулошниковой (1993). Активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали по Т.В. Сироте (1999). Для проведения кристаллоскопического исследования плазму крови в объеме 100 мкл наносили на предметное стекло и приготавливали микропрепараты высушенной биологической жидкости в соответствии с методом кристаллоскопии, позволяющим оценивать собственную кристаллогенную активность биосреды. Полученные в ходе исследования данные обработаны с помощью пакета статистических программ Statistica 6.1 for Windows.

Результаты и обсуждение. Изучаемое воздействие обеспечивает умеренную стимуляцию процессов липопероксидации, о чем свидетельствует увеличение максимальной фотовспышки биохемилюминесценции на 36,5% ($p < 0,05$). В то же время уровень общей антиоксидантной активности плазмы возрастает более выраженно (на 41,6%; $p < 0,05$). В совокупности подобные изменения свидетельствуют об антиоксидантном действии холодной гелиевой плазмы. У животных основной группы отмечали снижение концентрации в плазме вторичного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (на 31,7%; $p < 0,05$). Это косвенно указывает на снижение темпов данного процесса. Кроме того, по завершении курса воздействия холодной плазмой регистрировали умеренную активацию одного из основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталитическая активность которой возрастала на 42,0% по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$). Подобная динамика позволяет заключить, что изучаемый фактор может рассматриваться в качестве стимулятора антиоксидантной системы плазмы крови.

Вторым компонентом оценки биологических эффектов гелиевой холодной плазмы явилось изучение ее влияния на кристаллогенную активности плазмы крови крыс. Выявлено, что рассматриваемое воздействие обеспечивает усиление кристаллогенной активности биологической жидкости. Это реализуется в параллельном повышении кристаллизуемости (в 2,07 раза относительно интактных животных; $p < 0,05$) и индекса структурности (на 48,4%; $p < 0,05$), отражающих плотность кристаллических элементов и сложность их структуропостроения соответственно. В то же время изучаемое воздействие способствует по-

вышению степени деструкции фации в микропрепаратах высушенной плазмы крови в 2,1 раза ($p < 0,05$), однако, с учетом того, что значение параметра у всех крыс основной группы не превышает 1,5 балла, указанные сдвиги остаются в пределах адаптационных. В совокупности с умеренным (на 38,3%; $p < 0,05$) сужением краевой белковой зоны фаций биосреды это потенциально указывает на трансформацию органо-минерального состава биожидкости и количественного соотношения ее отдельных компонентов.

Заключение. Таким образом, холодная гелиевая плазма направленно трансформирует окислительный метаболизм плазмы крови и ее кристаллогенные свойства, выступая в качестве агента с умеренными антиоксидантными свойствами и стимулятора дегидратационной структуризации. При этом антиоксидантный эффект реализуется в том числе за счет активации супероксиддисмутазы.

Маслова Г.Т., Зажогин А.П., Трубецкая А.С., Титова А.В.

Использование морфоструктурного анализа и лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии высушенных капель плазмы крови для диагностики пациентов с опухолями головного мозга

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
Патологическое состояние организма тесно связано с изменениями содержания химических элементов в биологических жидкостях. Механизмы переноса коллоидных частиц в высыхающих каплях в настоящее время достаточно хорошо изучены как теоретически, так и экспериментально. Однако влияние диффузии на перемещение молекул малого размера (соли) внутри капли изучено еще недостаточно. В настоящей работе анализируется морфология и пространственное распределение (по объему капли) кальция при высыхании капель плазмы крови пациентов с опухолями головного мозга.

Образцы готовили по следующей методике. Каплю плазмы крови пациентов с опухолью головного мозга (ОГМ) объемом 10 мкл наносили на поверхность тщательно промытой подложки из ПММА, высушивали при температуре 20-25 °С и относительной влажности воздуха 60-65 % в течение примерно 90-100 минут. Диаметр высушенной капли - примерно 6 мм, средняя толщина - примерно 0,07 мм.

Для получения снимков высыхающих и высушенных капель использовали оптический микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой.

На всех полученных снимках картина структурирования, пусть в разной степени, но отличается от нормы (донор), что является признаком наличия патологии. Идентифицируются различные типы фаций, кроме

радиального нормотипа. У 3 пациентов в фации обильно присутствуют морщины (складчатость), хаотично разбросанные широкие жгутовые трещины. Присутствуют трехлучевые трещины (маркер застойных явлений в организме), небольшие жгуты (признак гипоксии ГМ) и бляшки (интоксикация организма). У 4 пациентов аномальное структурирование белка в значительной мере происходит в верхних слоях высыхающей капли плазмы крови. При этом на поверхности фации вытесняется NaCl, который кристаллизуясь, создает дендритную, похожую на листья, картину.

Наличие альбумина в крови в пределах физиологической нормы (45-55 % от общего белка) далеко не всегда отражает полноценность его транспортной функции. Его связывающие центры могут быть блокированы токсичными лигандами (при эндотоксемиях и печеночной недостаточности), в связи с чем транспортная емкость резко снижается. В связи с этим для клиницистов весьма важное значение имеет методика определения степени заблокированности центров связывания альбумина, его резервной связывающей способности и в соответствии с этим оценки транспортной функции.

В настоящей работе для оценки процессов коацервации альбумина изучено пространственное распределение кальция в высохших каплях плазмы крови пациентов с диагнозом опухоль головного мозга.

Оценку локального пространственного распределения макро- и микроэлементов в высушенных каплях плазмы крови экспериментально проводили с помощью лазерной многоканальной спектрометрии. При проведении исследований использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1. Лазерное излучение фокусируется на образец с помощью ахроматического конденсора с фокусным расстоянием 100 мм. Размер пятна фокусировки примерно 50 мкм. Все эксперименты проводили в атмосфере воздуха при нормальном атмосферном давлении.

Полученные данные показывают, что у больных с ОГМ концентрация кальция ниже, чем у здорового человека. Кроме того, в процессе высыхания капель происходит хаотичное образование центров коагуляции, наблюдается разброс концентрации кальция как по поверхности, так и слоям. Налицо - изменение связывающей способности альбумина при патологии. Это приводит к аномальной коагуляции белка и увеличению концентрации кальция по центру фации и в более глубоких слоях, что не характерно для здорового человека.

Настоящее исследование с использованием указанных методов показало, что анализируя поверхность высохшей капли БЖ по структурным проявлениям и изменению концентрации кальция по поверхности

и слоям можно дать достоверную оценку патологических изменений, что может быть использовано как для поиска маркеров заболеваний, так и для контроля за ходом лечения.

Миргазов Д.А., Осянин К.А., Хаммадов Н.И., Косарев М.А.
Анализ распределения бруцелл в органах лабораторных животных при гипериммунизации живым бруцеллезным антигеном

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Россия

Возбудители инфекционных заболеваний после заражения организма сохраняются в различных органах. Определив место локализации биопатогена можно получить представление о стадии инфекционного процесса [1].

Целью данной работы являлось определение распределения бруцелл в организме лабораторных животных после гипериммунизации штаммом S19 *Brucella abortus*.

Эксперимент проводили на трех кроликах подверженных гипериммунизации вакцинным штаммом S 19, путем введения в ушную артерию. Для исследования брали части органов.

Для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) использовали набор «ДНК-сорб-В» производства ЦНИИ Эпидемиологии РФ, в соответствии с инструкцией по применению комплекта реагентов. Амплификация проводилась в режиме реального времени на амплификаторе C1000 с оптическим блоком CFX96. При исследовании были использованы 3 группы праймеров и зондов, дизайн был проведен по аналогичной методике, описанной в публикации [2]: первая группа олигонуклеотидных затравок определяет род бруцелл (канал Cy5), вторая и третья - виды *Brucella abortus* (канал ROX), *Brucella melitensis* (канал R6G), соответственно. Использованные зонды имели различные флуоресцентные метки, что позволило провести мультипраймерную реакцию.

Состав реакционной смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в расчёте на 1 пробу: x10 ПЦР буфер (10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 0,1% Triton-X100) – 1,5 мкл; 2,5 mM раствор dNTPs – 1,5 мкл; 10 пкМ раствор каждого праймера и зонда – по 1,5 мкл; Taq полимеразы – 0,5 мкл; 25 mM раствор MgCl₂ – 1,5 мкл; вода деионизированная – 3,5 мкл. В полученную реакционную смесь вносили 5 мкл препарата нуклеиновых кислот. Общий объём реакционной смеси составил 15 мкл. Протокол амплификации был следующий: 1-й цикл 95°C –

5 мин; 2-й цикл (95°C – 30 с., 60°C – 30 с.) 5 повторов; 3-й цикл (95°C – 12 с., 60°C – 35 с.) 42 повтора с детекцией на стадии 60 °C.

Интерпретация результатов амплификации производилась на основании выходных данных программного обеспечения «CFX Manager».

В результате проведенных исследований наблюдалось накопление во времени значений флуоресценции по каналам ROX, Cy5 и отсутствие флуоресценции по каналу R6G. Таким образом, было установлено присутствие бактерий в различных органах животных-продуцентов, и установлены их родовая и видовая принадлежность. Было показано, что в органах кроликов аккумулировались бактерии вида *Brucella abortus*. Максимальное количество бруцелл, зафиксировано в селезенке, подчелюстных и околушных лимфоузлах. Это явилось следствием примененного антигена и места его введения, а также анатомо-физиологических особенностей кроликов и патогенеза возбудителя.

ПЦР обладает высокой специфичностью, что позволяет определить принадлежность возбудителя к роду *Brucella*, а также видам *B.abortus* и *B.melitensis*. Кроме того, ПЦР является одним из наиболее быстрых методов диагностики возбудителей инфекционных заболеваний.

Результаты применения полимеразной цепной реакции, позволяют рекомендовать данный метод для контроля локализации бруцелл в организме животных-продуцентов после гипериммунизации, а также индикации и идентификации бруцелл в анализируемом патологическом материале.

Литература

1. Хабибуллин Р.Р., Фомин А.М. Приживаемость, контагиозность и стабильность свойств культуры бруцелл вакцинного штамма *B. abortus* 82-sr при пассажах через организм морских свинок // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана.2011. № 208.С.279
2. Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR // *Astra Salvensis*. – 2017. – V. 5, Suppl. 1. – P. 481-489.

Мневец Д. В.¹, Дудко А.В.², Давидовский А. И.², Вересов В. Г.²

Исследование методом молекулярной динамики роли фосфорилирования метаксина-1 во VDAC2-Вак-опосредованном апоптозе

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

Апоптоз (запрограммированная физиологическая смерть клетки) является процессом, посредством которого осуществляется элиминирование потенциально опасных эктопических, старых или поврежден-

ных клеток. Известно, что нормальное функционирование различных органов основано на балансе апоптоза и пролиферации. Нарушение механизмов апоптоза и вызванный этим дисбаланс между гибелью и делением приводят к возникновению ряда заболеваний человека. Центральную роль в осуществлении пермеабиллизации наружной мембраны митохондрий (ПНММ), ключевого события в митохондриальном апоптозе, играют белки семейства Bcl-2, включающие три подсемейства: проапоптотические Вах-подобные, антиапоптотические и BH3-only белки. Проапоптотический Вах-подобный белок Вак является одним из основных белков-экзекутеров апоптоза. Недавно было показано, что Вак связан с комплексом VDAC2/метаксин-1/метаксин-2 и после индукции апоптоза, Вак переключается от ассоциации с VDAC2 к ассоциации с метаксином-1. Это проапоптотическое изменение партнеров находится под контролем фосфорилирования Туг228 метаксина-1, причем дефосфорилирование этого аминокислотного остатка способствует переходу Вак с VDAC2 на метаксин-1, сопровождающегося ПНММ и апоптозом [1]. Однако причины этого опосредованного фосфорилированием изменения партнеров белком Вак не имеют до сих пор объяснения на структурном уровне.

Целью исследования было установление структурных механизмов регуляции апоптоза фосфорилированием Туг228 метаксина-1.

Материалы и методы. Моделирование 3D-структур белков VDAC2 и метаксин-1 осуществляли, используя программы I-TASSER и программу Rosetta 3.6 GinzU. Моделирование белковых комплексов осуществляли, используя комбинацию программ молекулярного докинга PIPER, Galaxy Refine Complex, ROSETTADOCK. Анализ интерфейсов осуществляли с помощью сервиса PPCheck и программы Rosetta 3.6 Interface Analyzer. Исследование динамики метаксина-1 осуществляли, используя программу расчетов методом молекулярной динамики GROMAX 2019. Было использовано силовое поле GROMOS 54a7.

Результаты. Были получены структурные модели белка метаксин-1 и его комплексов с Вак при фосфорилированном и дефосфорилированном Туг228 метаксина-1. Проведено уточнение полученных структур методом молекулярной динамики.

Выводы. Полученные структурные данные показывают, что фосфорилирование Туг228, меняет конформацию метаксина-1 таким образом, что он становится геометрически и электростатически менее комплементарным белку Вак, затрудняя критический для осуществления ПНММ и апоптоза переход Вак из комплекса VDAC2/Вак на метаксин-1. Полученные результаты позволяют предположить, что статус фосфорилирования аминокислотного остатка Туг228 метаксина-1

определяет скорость осуществления апоптоза в ответ на действие апоптотических стимулов.

Литература

1. Petit E, Cartron PF, Oliver L, Vallette FM. The phosphorylation of Metaxin 1 controls Bak activation during TNF α induced cell death. Cell Signal. 2017 30:171-178.

Мокрушин А.А.

Эффекты смысловых и антисмысловых олигодезоксинуклеотидов к субъединице GluN1 N-метил-D-аспаратного рецептора

ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»,

г. Санкт Петербург, Россия

Когнитивное усиление является актуальной темой в современной нейробиологии. Основными классами препаратов, используемых в качестве потенциальных когнитивных энхансеров, являются некоторые психостимуляторы (например, метилфенидат, модафинил), а также активаторы α -амино-3-гидрокси-5-метилизоксазол-4-пропионовой кислоты (AMPA) рецепторов – AMPАкины. К числу потенциальных когнитивных энхансеров следует отнести ионотропные глутаматные N-метил-D-аспаратные (NMDA) рецепторы. Они участвуют в различных формах синаптической пластичности, включая обучение, а редукция активности NMDA рецепторов вызывает нарушения обучения и памяти. Доказано, что NMDA-зависимые механизмы активно вовлекаются в развитие нейрональной модели обучения и формирования следов памяти на модели долговременной посттетанической потенциации (ДПП).

Цель. В данной работе были исследованы эффекты смысловых и антисмысловых ОДН на GluN1 субъединицу NMDA рецепторов в процессе индукции и развитии неассоциативной формы обучения – ДПП.

Материалы и методы. Исследования проводились на срезах обонятельной коры мозга крыс-самцов линии Вистар. В срезах внеклеточно регистрировали амплитуды NMDA компонента возбуждающего постсинаптического потенциала (ВПСП – в дальнейшем “NMDA потенциалы”) стеклянными микроэлектродами, заполненными 1 M NaCl сопротивлением 1–5 МОм в ответ на электрические импульсы латерального обонятельного тракта. Срезы инкубировались в течение 6 ч в среде со смысловыми (5'-ctacaacgtacaagtagt-3') и антисмысловыми (5'-cagcaggtgcatgtgtct-3') ОДН в концентрации 10^{-8} M. В них регистрировались изменения амплитуд NMDA потенциалов в ответ на тетанизацию при воздействии смысловыми и антисмысловыми ОДН.

Результаты. При воздействии смысловыми ОДН тетанизация срезов усиливала фазу индукции и стадию поддержания ДПП в течение всего времени регистрации (85 мин), что указывает на ноотропные свойства

смысловых ОДН. Эффекты антисмысловых ОДН приводили к развитию устойчивой долговременной посттетанической депрессии, которая сохранялась в течение 85 мин и препятствовала негативному воздействию стресс-факторов (аноксия, глутаматная эксайтотоксичность).

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о существенном и активном участии субъединицы GluN1 NMDA рецепторов в усилении неассоциативного обучения – ДПП в кортикальных нейронах. Эти эффекты указывают на ноотропный потенциал смысловых ОДН. Ингибирование активности NMDA-зависимых механизмов антисмысловыми ОДН проявляет протективные свойства, что будет способствовать их защите от негативных воздействий.

Нечипуренко Н.И., Пашиковская И.Д., Прокопенко Т.А.

Биохимические нарушения у пациентов с транзиторной ишемической атакой

ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии», г. Минск, Беларусь
Цереброваскулярные заболевания являются одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. При этом 80% острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) являются ишемическими. Одна из форм ОНМК - транзиторная ишемическая атака (ТИА), при которой неврологическая симптоматика сохраняется от нескольких минут до 24 ч. Транзиторные ишемические атаки развиваются у людей не только пожилого, но и среднего возраста, характеризуясь достаточно высоким риском развития последующего ишемического инсульта.

Цель. Изучить содержание ряда метаболитов углеводно-энергетического, липидного обмена, высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ); состояние про-, антиоксидантного баланса в 1-е–2-е сутки от момента развития ТИА.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 15 пациентов с ТИА, госпитализированных в неврологические отделения БСМП г. Минска, средний возраст которых составил $49,3 \pm 12,4$ лет. Нормальные показатели изучены у 22 здоровых лиц (возраст $55,8 \pm 10,9$ лет, $p > 0,05$ относительно возраста пациентов).

На 1-е–2-е сутки после госпитализации проводили определение концентрации лактата и пирувата, рассчитывали соотношение лактат/пируват. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови изучали по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина. Активность каталазы определяли по методу М.А. Королюка. Неферментативное звено антиоксидантной системы (АОА) оценивали с по-

мощью набора реагентов «Оксистат» спектрофотометрически и выражали в размерной молярной концентрации тролокса (водорастворимого аналога витамина Е). Концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П) исследовали по методике, модифицированной В.А. Костюком. Определение вчСРБ и показателей липидного профиля проводили на биохимическом анализаторе AU 400 Olympus. При статистической обработке результатов применяли программу Statistica 10.0.

Результаты. На момент госпитализации у пациентов с ТИА установлено статистически значимое повышение концентрации лактата ($p=0,02$), снижение содержания пирувата ($p=0,01$), увеличение соотношения лактат/пируват до 18,3 (14,7-23,2) ($p=0,0002$) относительно группы здоровых лиц. Также выявлено снижение активности СОД до 83,5 (74,2-92,1) У/мл против нормальных показателей 106,3 (92,9-117,6), $p=0,0001$; повышение концентрации ТБК-П до 3,46 (2,34-3,69) мкмоль/л против 2,08 (1,8-2,7) в норме ($p=0,008$). Изменений значения АОА, показателей липидного профиля и уровня вчСРБ у пациентов с ТИА не установлено. По результатам корреляционного анализа выявлена положительная связь между содержанием холестерина и липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) ($R=0,58$; $p=0,04$); холестерина и вчСРБ ($R=0,58$; $p=0,05$), ЛПВП и вчСРБ ($R=0,59$; $p=0,04$). Отрицательная связь была установлена между соотношением лактат/пируват и уровнем АОА в сыворотке ($R= -0,57$; $p=0,02$), что свидетельствует о снижении активности неферментативного звена антиоксидантной системы при нарушении углеводно-энергетического обмена.

Заключение. Таким образом, на момент госпитализации у пациентов с ТИА установлено развитие тканевой гипоксии с лактатемией и дисбаланс в про-, антиоксидантной системе крови в виде повышения концентрации вторичных продуктов перекисного окисления липидов на 66% при уменьшении активности СОД на 21,4%. Выявлена отрицательная корреляционная зависимость между соотношением лактат/пируват и антиоксидантной активностью в сыворотке крови. Несмотря на отсутствие изменений показателей липидного профиля и содержания вчСРБ в крови пациентов при данной патологии, установлены прямые корреляционные связи между содержанием холестерина, в том числе ЛПВП, и вчСРБ при отсутствии таких корреляционных связей у здоровых лиц. Полученные результаты свидетельствуют о развитии ряда метаболических нарушений, представляющих существенные звенья патогенетической структуры ТИА.

**Возраст-зависимые нарушения долгосрочной памяти
и двигательной активности в условиях нарушения баланса
кинуренинов у дрозофилы**

¹ ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»,
г. Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУВО «Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Одной из наиболее фундаментальных задач современной нейронауки является познание того, как мозг участвует в приобретении, хранении и воспроизведении различных форм памяти (Савватеева-Попова и др., 2015). Это крайне важно в свете роста числа различных заболеваний нервной системы, развивающихся в пожилом возрасте и сопровождающихся прогрессирующей потерей памяти. Нарушение памяти является одним из основных диагностических признаков, наблюдаемых при нейродегенеративных заболеваниях, большинство из которых являются болезнями старения. Возникновение нейродегенеративных изменений в мозге может вызываться нарушением кинуренинового пути обмена триптофана (КПОТ). Некоторые его метаболиты, в частности, 3-гидроксикинуренин (3-НОК), в клеточных культурах нейронов индуцируют процессы свободнорадикального окисления, вызывающие гибель клеток. Окислительный стресс играет важную роль в генезисе различных патологических состояний, таких как ишемия-реперфузия, атеросклероз, сердечная недостаточность, гипертензия, почечная недостаточность, кардиомиопатия, гипертония, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, диабет. Окислительный стресс также является одной из составляющих процесса старения (Никитина и др., 2018). Мутантов КПОТ дрозофилы можно рассматривать в качестве моделей для экспериментального изучения роли нейропротективного и нейротоксического эффекта метаболитов КПОТ в изменениях мозговых функций, которые приводят к нарушениям памяти и локомоторного поведения. Целью работы было исследование возрастных изменений формирования памяти и локомоторного поведения у дрозофилы. Эксперименты проводили с привлечением следующих линий дрозофилы: *Canton-S* (CS; дикий тип) и *cardinal* (*cd*; мутантная линия с накоплением 3-НОК). Исследование формирования долгосрочной памяти проводили с использованием методики условно-рефлекторного поведения ухаживания, основанной на естественных для полового поведения дрозофилы стимулах. Локомоторное поведение изучали с помощью анализа спонтанной двигательной активно-

сти. Спонтанную двигательную активность исследовали у взрослых самцов на стадиях 5, 13, 21 и 29 сут. имагинального периода в течение 1 ч (Никитина и др., 2017). Выявлено возраст-зависимое развитие нарушений спонтанной локомоторной активности для мутанта *cd*. Принципиально новые данные получены при изучении долгосрочной памяти. При обучении самцов в возрасте 5 суток формирование и сохранение долгосрочной памяти протекают нормально. Однако при обучении самцов в возрасте 13 сут долгосрочная память не формируется, что свидетельствует о нарушении способности к формированию долгосрочной памяти при старении. Полученные данные способствуют раскрытию механизмов развития нейропатологий, в том числе при нарушениях КПОТ, что является необходимым условием развития персонализированной и предиктивной медицины.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2020 годы (ГПИ-14, раздел 63).

*Николаев С.В., Логвинов И.О., Круглов С.В., Антипова Т.А.,
Сазонова Н.М., Антипов П.И., Гудашева Т.А.*

**Активация Erk-киназного пути под действием димерного
дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2
в разных культурах клеток**

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии
имени В.В. Закусова», г. Москва, Россия

Ранее нами было показано, что миметик 4-й петли фактора роста нервов (NGF) ГК-2, синтезированный в НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова, проявлял нейропротекторную активность, сопоставимую с таковой у самого NGF на культурах иммортализованных клеток гиппокампа мыши HT-22 и клеток нейробластомы человека SH-SY5Y [1]. ГК-2, как и NGF, активирует специфический тирозинкиназный рецептор TrkA в обеих культурах клеток [2].

Целью данной работы стало исследование активации пострецепторного Erk-киназного сигнального пути TrkA-рецептора в этих двух культурах клеток.

Материалы и методы. Клетки линии HT-22 рассеивали на чашки Петри обработанные поли-D-лизином (BD Biosciences, США; 5 мкг/см²) с плотностью 20 тыс/см² в среде DMEM (Thermo Fisher Scientific, США), содержащей 5% телячьей эмбриональной сыворотки (Gibco Life Technologies, США) и 2 mM L-глутамин (ICN, Германия), и инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ до образования монослоя. ГК-2 (10⁻⁶M) вносили в культуральную среду в эффективных концен-

трациях, установленных в экспериментах по нейропротекторному действию этих соединений на культуре гиппокампальных клеток линии HT-22. В качестве положительного контроля использовали NGF (10^{-9} М). Клетки лизировали через 15, 30, 60 и 180 минут после внесения пептидов. Временные точки были выбраны, исходя из литературных данных по фосфорилированию Erk-киназ под действием NGF. Содержание p-Erk1/2 и Erk1/2 определяли методом Вестерн-блот анализа с использованием антител к соответствующим белкам. Детектирование белков осуществляли после отмывки от вторичных антител в реакции с ECL-реагентами (Santa Cruz Biotechnology, США) с использованием гель-документирующей системы Alliance UVITEC (Великобритания). Денситометрию полученных изображений проводили с помощью программы GIMP2. Для оценки межгрупповых различий при сравнении двух групп использовали U- критерий Манна-Уитни. Данные считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты. Под действием ГК-2 в культуре клеток HT-22 фосфорилирования Erk не наблюдалось ни в одной из исследуемых временных точек. После внесения NGF увеличение фосфорилирования наблюдается через 60 и 180 минут. В культуре клеток SH-SY5Y после внесения NGF фосфорилирование Erk достигает максимума на 15-й минуте, через 60 минут снижается до контрольного уровня. Спустя 180 минут после внесения фосфорилирование снова увеличивается. После внесения ГК-2 фосфорилирование Erk наблюдалось лишь через 15 минут после внесения ГК-2. Выявленные различия в активации Erk-киназного пути могут быть связаны с вовлечением в этот процесс протеинкиназы-C- δ , которая, по литературным данным, присутствует в клетках линии SH-SY5Y и отсутствует в клетках линии HT-22.

Выводы. Димерный дипептидный миметик NGF ГК-2 вызывает активацию Erk-киназного пути только в культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y.

Литература

1. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б., Исследование in vitro нейропротективных свойств нового оригинального миметика фактора роста нервов ГК-2. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2010; 150(11):537-540.
2. Gudasheva T.A., Povarnina P. Yu., Antipova T.A., Firsova Yu.N., Konstantinopolsky M.A., Seredenin S.B., Dimeric dipeptide mimetics of the nerve growth factor Loop 4 and Loop 1 activate TRKA with different patterns of intracellular signal transduction. Journal of Biomedical Science. 2015; 22(1):106-115 doi: 10.1186/s12929-015-0198-z.

Биохимические аспекты деструктивного мультирезистентного туберкулеза легких

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина.

Как известно, наиболее часто встречается ТБ легочной локализации. Особую обеспокоенность вызывает увеличение количества пациентов с мультирезистентным ТБ (МРТБ), доля которого в структуре заболеваемости ТБ растет из года в год. При ТБ-процессе, при непосредственном участии возбудителя ТБ – микобактерии ТБ (МБТ), происходит разрушение легочной ткани и формирование полостей деструкции и каверн. В этом процессе активное участие принимают протеолитические ферменты – металлопротеиназы (ММП) и их ингибиторы – тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП), в частности ТИМП-1. ММП участвуют в разрушении коллагеновых волокон легкого, продуктами метаболизма которого являются оксипролин свободный (ОС), который указывает на интенсивность процессов распада, и оксипроли белковосвязанный (ОБ), который выступает в качестве маркера репарации легочной ткани. ТИМП-1 - контролирует интенсивность процессов реорганизации легочной ткани при ТБ.

Цель. Изучить биохимические маркеры деструкции легочной ткани при туберкулезе легких.

Материалы и методы. Обследовано 124 больных ТБ легких (группа 1 - 84 пациента с МРТБ и группа 2 – 40 больных ТБ с сохраненной чувствительностью МБТ к антимикобактериальным препаратам. У всех больных были исследованы биохимические показатели – уровни ОС, ОБ, ТИМП-1 в начале лечения, через 2 и 3 месяца от начала терапии. Определение уровня ОС и ОБ осуществлялось по методу Шараева П.Н. в перерасчёте на мг/л. Исследование уровня ТИМП-1 проведено методом ИФА при помощи тест системы Human TIMP-1 Platinum ELISA, affymetrix Biocscience, Austria. Для стат. обработки результатов использовали медиану (Me) интерквартильных размахов и размаха выборки. Разницу между группами определяли методом непараметрической статистики с использованием критериев Манна-Уитни.

Результаты. Уровень ОС в группе 1 был в начале лечения 0,97 мг/л, через 2 и 3 месяца – 1,04 мг/л и 0,88 мг/л соответственно. В группе 2, его уровень составлял 0,86 мг/л, 0,97 мг/л и 0,79 мг/л соответственно в начале лечения, через 2 и 3 месяца. Уровень ОБ в группе 1 в начале лечения составлял 2,25 мг/л, через 2 месяца – 2,11 мг/л, а через 3 месяца – 2,45 мг/л. В группе 2 этот показатель в начале лечения составлял 2,96 мг/л, через 2 месяца лечения 1,45 мг/л, а через 3 месяца лече-

ния – 1,38 мг/л. Уровень ТИМП-1 в группе 1 в начале лечения составлял 128,2 нг/мл, через 2 месяца лечения – 163,1 нг/мл, а через 3 месяца – 163,3 нг/л. Этот показатель в группе 2 составлял 125,1 нг/мл, 168,3 нг/мл и 174 нг/мл соответственно в начале лечения, через 2 и 3 месяца лечения.

В динамике у больных из группы 1 уровень ОС был выше, чем в группе 2 все 3 месяца. Уровень ОБ в начале был выше в группе 1, однако в группе 1 его уровень вырос за 3 месяца на 8,9 % ($p<0,05$), а в группе 2 снизился на 53,2 % ($p<0,05$). Уровень ТИМП-1 рос в обеих группах, однако за 3 месяца лечения, динамика нарастания его уровня была выше в группе 2 (27,4 % и 39,2 % в группах 1 та 2 соответственно ($p<0,05$)).

Выводы. В начале лечения, в группе 1 механизмы репарации легочной ткани были связаны с активацией ТИМП-1, который способствовал повышению уровня ОБ. Через 2 месяца лечения, наблюдалось повышение уровня ТИМП-1 во обеих группах, что тормозило процессы разрушения легочной ткани, преимущественно за счет нарастания уровня ОБ, что характерно было для группы 3.

Odnorih L.O., Kushynska M. Ye.

Cortisol indexes changes in unstable angina pectoris according to the age

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

The topicality. Cardiovascular diseases (CVD) continue to be one of the main causes of disability and mortality in most countries of the world. Age is one of the most powerful triggers for the risk of cardiovascular disease, however, age-related mechanisms for the onset and progression of CVD and atherosclerosis remain unclear [1].

Objective. The study was devoted to the research of age-related changes in cortisol levels in the serum of patients with unstable angina.

Material and methods. The study included 68 patients with unstable angina, which were divided into 2 groups depending on age: the first group – 34 patients aged 39-60 years (Mean – 51.6), the second – 36 patients aged 61-74 (Mean – 67.5). The first and second control groups consisted of 30 practically healthy persons each in the range of 40-59 (Mean – 52.7) and 61-72 (Mean – 67.9) years, respectively, without signs of coronary heart disease, which were not at the dispensary observation about somatic pathology.

In order to study levels of cortisol, blood serum was used.

The concentration of cortisol was determined by immunochemical method with electrochemiluminescent ECLIA detection (Roche Diagnostics test system, Switzerland) on the COBAS E 411 automatic analyzer.

The results of the research were analyzed by mathematical method, performing statistical processing of the obtained data using the methods of mathematical statistics and the program STATISTICA 8.0 (Statsoft, USA). The following basic statistical indicators were defined: the arithmetic average (M) and the standard error of the mean (m). The difference between the arithmetic mean values was considered probable for the values of $p < 0.05$.

Results and discussion According to modern data, the atherosclerotic lesion is based on inflammatory mechanisms that at the early stages cause the formation of an atherosclerotic plaque, and later lead to its changes and the formation of a blood clot. Cortisol indirectly affects the enzyme phospholipase C, resulting in inhibition of inflammatory reactions [2]. While the study of the cortisol level, it was determined that the concentration of this biomarker in group 1 (259.61 ± 3.60 nmol/l) was lower by 27% comparably to control group 1 (353.46 ± 3.79 nmol/l) ($p < 0.05$), while in group 2 (220.14 ± 4.19 nmol/l) higher by 23% if to compare to control group 2 (168.53 ± 3.22 nmol/l) ($p < 0.05$), but below the indicator of group 1 by 15%.

Conclusions. Research results demonstrated that the development of unstable angina is accompanied by changes in the levels of cortisol according to age. Decrease in the level of cortisol with age may indicate a reduction in the ability of the organism to suppress the inflammatory responses.

References

1. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. / edited by Mann Douglas L. 2-Volume Set, 10th Edition. – Saunders, 2015. – 2128 p.
2. Knoop A.J. Age-related changes in hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in patients with manifest arterial disease / A.J. Knoop, [et al.] // Endocrine. – 2010. – Vol. 37(1). – P. 231-8.

Отеллин В.А., Хожай Л.И., Шишко Т.Т.

Влияние салифена, производного γ -аминомасляной кислоты, на экспрессию рецептора GABARA1 у крыс, перенесших перинатальную гипоксию

ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»,
г. Санкт-Петербург, Россия

Основным тормозным синаптическим нейротрансмиттером в мозге человека и млекопитающих является ГАМК (γ -аминомасляная кислота). Установлено, что синаптическая передача тормозного сигнала осуществляется в основном через активацию рецептора GABARA1 α . Исследование выполнено на крысах линии Вистар на 90 постнатальные сутки. В работе изучали свойства салифена, производного ГАМК, на нейроны, экспрессирующие рецептор GABARA1 α , у животных после перинатальной гипоксии. Для выявления нейронов, экспрессирующих GABARA1 α , использовали поликлональные антитела GABA-A

Receptor alpha 1 (Abcam, США). Для оценки оптической плотности продукта реакции в цитоплазме нейронов и нейропиле использовали изображения, полученные с помощью цифровой видеокамеры, и программное обеспечение ВидеоТест Мастер Морфология (ООО «Видео Тест», Санкт-Петербург). Данные обрабатывали, вычисляя среднее арифметическое значение, и ошибку среднего значения, статистическую обработку проводили средствами анализа ANOVA (Statistica 7.0, Statsoft Inc., USA) с достоверностью различий при $p < 0,05$. Учитывая изменения оптической плотности иммуноокрашивания на GABARA1 α цитоплазмы нейронов, сети отростков и синаптических структур в нейропиле, было показано, что перинатальная гипоксия оказывает негативное воздействие на экспрессию рецептора GABARA1 α у взрослых животных, достигших половозрелого возраста. Применение салифена после воздействия гипоксии положительно влияет на сохранность общей численности нейронов во всех слоях неокортекса. Общее число нейронов, присутствующих на единице площади в разных слоях примерно одинаковая у контрольных животных и крыс, переживших перинатальную гипоксию и получавших салифен. У животных, подвергавшихся воздействию перинатальной гипоксии общая численность нейронов сокращается в верхних слоях на 36,4% (II-IV), в глубоких слоях на 33,3% (V) и на 32,6% (VI). Сравнительный анализ количественных данных по слоям сенсомоторной области неокортекса показал, что во всех слоях неокортекса у животных, переживших воздействие перинатальной гипоксии, введение салифена обеспечивает сохранность числа нейронов, экспрессирующих GABARA1 α , которое соответствует контрольному значению. У животных, переживших перинатальную гипоксию, в глубоких слоях число таких нейронов снижается на 37,2%.

В верхних слоях (II-IV) в цитоплазме нейронов уровень экспрессии GABARA1 α примерно одинаковый во всех сериях опытов и соответствует контролю. Изменения отмечены в глубоких слоях (слое V), где у контрольных животных экспрессия GABARA1 α в цитоплазме нейронов и в нейропиле в отростках и синаптических структурах в 2,5 раза и в 1,6 раза выше (соответственно), чем после воздействия гипоксии и после введения салифена. В слое VI у животных уровень экспрессии GABA-A-1 α в цитоплазме нейронов примерно одинаков в контроле и во всех сериях эксперимента. В нейропиле уровень экспрессии GABA-A-1 α в отростках и синаптических структурах в контроле и после введения салифена в 2,2 выше, чем у животных, переживших перинатальную гипоксию.

Полученные данные свидетельствуют о том, что воздействие перинатальной гипоксии значительно снижает число нейронов, экспрессирующих GABARA1 α рецептор и изменяет интенсивность его экспрессии, особенно, в глубоких слоях (V). Применение салифена, соединения производного ГАМК, нивелирует разницу в уровнях экспрессии GABA-A-1 α . Результаты работы будут способствовать пониманию механизмов нарушения тормозной передачи в неокортексе при формировании нейропатологий.

Павлова О.В., Гладкая О.К., Трусова М.М.

Использование хитозана в качестве энтеросорбента при отравлениях формальдегидом и фенолами

УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»,
г. Гродно, Беларусь

В настоящее время здоровье более 60% населения находится в прямой зависимости от наличия в месте проживания промышленных объектов. Постоянное влияние неблагоприятных химических факторов отдельно или в различных сочетаниях, вызывает снижение резистентности к различным заболеваниям. Данное состояние характеризуется дефицитом энергетического обеспечения организма, возникновением иммунодефицитов, превалированием катаболических процессов, в результате чего в организме развиваются патологические состояния. Неблагоприятный экологический фон в несколько раз повышает частоту желудочно-кишечных и респираторных заболеваний. Обладая комплексным оздоровительным эффектом на организм, хитозан может выступать как один из самых перспективных энтеросорбентов, периодический прием которого необходимо рекомендовать людям, проживающим в областях техногенного загрязнения.

Формальдегид и фенол одни из основных техногенных загрязнителей, легко проникающих в организм человека и имеющих свойства накапливаться в нем вызывая пагубное воздействие на организм.

Целью работы является определение сорбционного потенциала хитозана к формальдегиду и фенолу.

Исследование проводилось на модельных растворах. Определение фенола осуществлялось методом броматометрического титрования. Определение содержания формальдегида выполнялось йодометрическим методом. Производился подсчет процентного содержания фенола и формальдегида в исходных растворах и растворах после сорбции хитозаном.

Важными свойствами хитозана являются гигроскопичность, сорбционные свойства, способность к набуханию. Хитозан хорошо набухает

и прочно удерживает в своей структуре растворитель, а также растворенные и взвешенные в нем вещества. В растворенном виде хитозан обладает намного большими сорбционными свойствами, чем в нерастворенном. Поэтому эксперимент проводился в трех разных вариациях, для адсорбции формальдегида и фенола использовался сухой хитозан, а также растворенный в 1%-ых органических кислотах, лимонной и уксусной. Данные кислоты являются безопасными для приема внутрь и используются в пищевой промышленности.

В результате проведенного исследования было выявлено, что при использовании сухого хитозана в растворах, содержащих фенол, навеска хитозана массой 0,1 г поглощает до 12,86 % фенола от всего содержащегося вещества в растворе объемом 0,25 л, тогда как 1% раствора хитозана в уксусной кислоте поглощает до 32,86 % фенола от всего содержащегося вещества в растворе объемом 0,25 л. Таким образом, в растворенном виде хитозан обладает намного большими сорбционными свойствами, чем в нерастворенном.

При использовании сухого хитозана в растворах, содержащих формальдегид, навеска хитозана массой 0,1 г поглощает до 19,08 % формальдегида от всего содержащегося вещества в растворе объемом 0,25 л, тогда как 1% раствора хитозана в уксусной кислоте поглощает до 38,16% формальдегида от всего содержащегося вещества в растворе объемом 0,25 л. Наибольшей сорбционной активностью обладает 1% раствор хитозана в лимонной кислоте – 44,89% формальдегида в растворе.

Данные результаты свидетельствуют о возможности использования хитозана в качестве энтеросорбента при отравлениях формальдегидом и фенолами, а для увеличения его сорбционной активности его необходимо использовать в виде растворов, растворителями в которых выступают слабые органические кислоты.

Павлюковец А.Ю., Шейбак В.М.

Сравнительный анализ спектра свободных аминокислот в тканях иммунной системы

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г. Гродно, Беларусь

Ключевой характеристикой белкового обмена является аминокислотный баланс. В физиологических условиях большая часть циркулирующих аминокислот имеет экзогенное происхождение. Они формируют общий фонд со свободными аминокислотами, образующимися в результате постоянного протекающего протеолиза белков. Помимо участия в биосинтезе белка, свободные аминокислоты служат суб-

стратами для синтеза эффекторных молекул клеток иммунной системы, а также антиоксидантных молекул (глутатион). Кроме того, аминокислоты могут быть использованы в качестве источникам энергии. Доказана роль отдельных аминокислот в качестве регуляторов клеточного цикла, клеточного и гуморального иммунного ответа, синтеза и деградации структурных элементов клетки.

Цель: сравнительный анализ концентраций свободных аминокислот в тканях иммунной системы (пейеровы бляшки, тимус, селезенка) интактных крыс, который позволяет сделать вывод о потенциальной функциональной активности этих звеньев иммунной системы.

Материалы методы. Для анализа использовали пейеровы бляшки, тимус и селезенку интактных крыс. Определение свободных аминокислот производили методом обращеннофазной ВЭЖХ. Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработка данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01.

Результаты. Тимус центральный орган иммунной системы, клеточный состав которого представлен преимущественно клетками двух типов: эпителиоретикулярные (камбиальные, секреторные, эпителиальные, ретикулярные и ороговевающие клетки), но подавляющее большинство клеток тимуса составляют Т-лимфоциты различной степени зрелости. Кроме того, в тимусе всегда присутствуют плазматические клетки, сегментоядерные лейкоциты. Общее количество свободных аминокислот и их азотсодержащих производных в ткани тимуса составляет примерно 38000-40000 нмоль/г, при соотношении заменимые/незаменимые 8-); АРУЦ 420-500 нмоль/г. Количественно среди индивидуальных аминокислот преобладают глутамат (4347-5239 нмоль/г), глутамин (3255-2541 нмоль/г), аланин (2171-2525 нмоль/г), напротив, в наименьшем количестве представлены триптофан (29-35 нмоль/г), метионин (42-79 нмоль/г).

Селезенка, периферический орган иммунной системы, содержит макрофаги, Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, а также нейтрофилы. Она служит резервуаром для тромбоцитов, образованных, а также богата эритроцитами. В ткани селезенки общее количество свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов находится в диапазоне 34679-41000 нмоль/г, соотношение заменимые/незаменимые 6,9-8,1; АРУЦ 812-944 нмоль/г, регистрируется максимальное количество: глутамата (4900-5434 нмоль/г), аспартата (1806-2735 нмоль/г) и глицина (1817-2269 нмоль/г), минимальное - триптофана (38-45 нмоль/г) и метионина (68-107 нмоль/г). Пейеровы бляшки представляют собой узелковые скопления лимфоидной ткани, состоящей, из Т- и В-зон.

Для них характерна уникальная морфологическая структура - фолликулярно-ассоциированный эпителий, содержащий так называемые М-клетки (микроскладчатые). В пейеровых бляшках общее количество свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов - 25436-28165 нмоль/г, соотношение заменимые/незаменимые 4,0-6,7; АРУЦ 853-1427 нмоль/г, в наибольшем количестве содержатся глутамат (3252-4677 нмоль/г), аланин (2589-1894 нмоль/г), глицин (1022-1271 нмоль/г), в наименьшем количестве триптофан (45-86 нмоль/г), метионин (89-111 нмоль/г). Во всех изучаемых тканях среди определяемых нами небелковых аминокислот в наибольшей концентрации находится таурин: в тимусе (9949-12272 нмоль/г), селезенке (11197-11348 нмоль/г), пейеровых бляшках (8596-9700 нмоль/г).

Выводы: а) во всех изученных органах иммунной системы глутамат содержится в наибольшем количестве; б) несмотря на то, что лимитирующими аминокислотами во всех тканях являются триптофан и метионин, их примерное процентное содержание в общем пуле свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов составляет: в тимусе 0,1% и 0,2%; в селезенке 0,1% и 0,2%; в пейеровых бляшках – 0,2% и 0,4%, соответственно.

В ткани тимуса содержится меньше незаменимых аминокислот и АРУЦ, что, вероятно, вследствие постоянно высокой пролиферативной активности и миграции на периферию клеток тимуса, указывает на повышенную потребность в этих аминокислотах.

Панасенко С. И.¹, Ковальчук С. Б.²

Биофизические аспекты флотации грудной клетки

¹Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава, Украина

²Полтавская государственная аграрная академия, г. Полтава, Украина

Один из самых тяжелых видов закрытой травмы груди – это множественные фрагментарные переломы грудинно-реберного каркаса (ГРК), которые сопровождаются появлением феномена флотации грудной клетки (ФГК). Вопросы разработки конструкции аппарата внешней фиксации (АВФ) для лечения ФГК остаются открытыми. Наиболее сложные из этих вопросов, кроются в инженерной составляющей, а именно в обосновании достаточной прочности и жесткости при максимальной простоте и минимальной массе конструкции АВФ. Цель данной работы – биомеханический кинематический анализ ФГК с определением общих черт конструкции АВФ ее устранения. С точки зрения технической механики ГРК – это фермоподобная несущая пространственная конструкция, которая испытывает деформи-

рующие нагрузки от сокращения дыхательных мышц, атмосферного давления и сил притяжения. Свои функции ГРК выполняет за счет собственной прочности и жесткости, что позволяет искусственно создавать и менять градиент внутригрудного давления во время выполнения актов дыхания. С этих же позиций, ФГК является случаем частичной потери прочности несущей конструкции, при котором условно статические элементы конструкции ГРК превращаются в механизм с ограничено подвижными звеньями. Лечебные системы металлоостеосинтеза выступают в роли «систем усиления», которые устраняют «лишние» степени свободы и позволяют восстановить несущую способность ГРК. Применение такого подхода с использованием элементов кинематического анализа и основных положений теории машин и механизмов, позволило проанализировать поведение ГРК, в разных случаях его повреждения, которые сопровождаются явлениями флотации. Кинематический анализ ФГК, позволил выявить основные черты дизайна оптимальной конструкции АВФ, обозначить возможные технические варианты исполнения, выйти на четкое клинико-техническое понимание этапов проведения внешнего остеосинтеза ГРК. Таким образом нами было установлено, что наиболее оптимальная технология лечебной иммобилизации ФГК возможна с использованием консольной металлоконструкции, которая должна шарнирно соединяться с ГРК. Результатом проведенного исследования и выполненных на его основе проектных расчетов элементов и узлов АВФ для оперативного лечения ФГК была разработана новая медицинская технология – экстраплевральный внеочаговый металлоостеосинтез ребер и грудины.

*Пашкова О.Л.¹, Рукиша К.Г.², Северин И.Н.³, Портянко А.С.^{2,3},
Дорошенко Т.М.^{1,3}*

Изучение тубулинов клеточных линий лимфом человека

¹ ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий»,
г. Минск, Беларусь

² УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

³ ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова», г. Минск, Беларусь

Микротрубочки представляют собой полые длинные филаменты, состоящие из димеров α - и β -тубулина, которые могут быть представлены различными изоформами. Они являются динамичными структурами, которые постоянно укорачиваясь и удлиняясь, обеспечивают в клетке ряд жизненно важных процессов, таких как сегрегация хромосом

в процессе деления, внутриклеточный транспорт, подвижность, поддержание формы и тургора клетки. Различные изменения в составе и пост-трансляционной модификации клеточных тубулинов происходят в канцерогенезе как солидных, так и гематологических опухолей. Эти изменения часто ассоциированы с химиорезистентностью и плохим прогнозом для целого ряда нозологий. Показана роль β_{III} -тубулина как маркера плохого прогноза и ответа на широкий круг цитостатических препаратов при целом ряде эпителиальных раков. Нормальная лимфоидная ткань лимфоузлов экспрессирует свой уникальный набор тубулинов, с преобладанием β_I - и β_{IV} -тубулина, однако необходимо знать, что происходит с экспрессией тубулинов при злокачественной трансформации и лимфоме, для установления возможной прогностической ценности ответа на терапию.

Целью нашего исследования было изучить экспрессию основных изоформ тубулина в клеточных линиях неходжкинских лимфом человека методами вестерн-блоттинга и иммунофлуоресценции.

Материалы и методы. Клетки линий лимфом человека Daudi, Namalwa, U-937, Raji культивировали в полной среде RPMI1640, содержащей 5% эмбриональной телячьей сыворотки в температуре +37°C и в атмосфере, содержащей 5% CO₂. В качестве контроля использовали лимфоциты здоровых доноров. Из клеточной суспензии готовили цитоспины на центрифуге Cytospin 4 (Termo scientific) согласно рекомендациям производителя и клеточные лизаты с лизирующим буфером (RIPA). Лизат подвергали электрофоретическому разделению по методу Лэмли в полиакриламидном геле (12,5%) в денатурирующих условиях с додецилсульфатом натрия, после чего белковые фракции переносили с помощью электроосмосиса из геля на нитроцеллюлозные мембраны «Hybond C». Их инкубировали с антителами мыши к ацетилированному α -тубулину, β_{IV} -, β_{III} -тубулину, β_I -тубулину или β -актину в концентрации 2-5 мкг/мл в течение 18 ч на холоду, затем отмывали и инкубировали с антителами против мышечных иммуноглобулинов, меченных полипероксидазой («EnVision», DAKO) и проявляли с помощью хромогена диаминобензидин (BioGenex). Мембраны после окраски анализировали на Kodak Image Station 2000R. Иммунофлуоресценцию проводили с использованием аналогичных первичных антител, далее цитоспины инкубировали с анти-мышинными антителами, меченными Alexa 488. Ядра окрашивались DAPI. Препараты заключались в специальную среду, содержащую анти-выцветающий агент (ProLong, Molecular Probes). Исследование стекол производилось в микроскопе с флуоресцентной осью Leica DM5000B.

Результаты. Обоими методами исследования установлено, что все клеточные линии характеризуются высоким уровнем экспрессии β_1 -тубулина в сравнении с контролем (лимфоциты доноров), в то же время различаются по экспрессии β_{III} -тубулина и ацетилированного α -тубулина. Линии наиболее злокачественной В-лимфомы – Namalwa и Daudi характеризовались экспрессией β_{III} -тубулина и отсутствием либо слабовыраженной экспрессией ацетилированного α -тубулина, В контроле β_{III} -тубулин отсутствовал. Ранее было показана экспрессия β_{III} -тубулина в опухолевых клетках у 75% включенных в исследование пациентов с лимфомой Беркетта (Yoon S.O., 2010), однако в литературе отсутствуют данные об экспрессии изотипов тубулина в клеточных линиях лимфом. Также методом вестерн-блоттинга нам удалось визуализировать экспрессию β_{IV} -тубулина – она наблюдалась во всех линиях, но была разной степени выраженности.

Выводы. Таким образом, нами отработаны методы визуализации основных изотипов тубулина в клетках лимфом человека для последующего изучения изменений, происходящих в процессе формирования химиорезистентности *in vitro* и проведения исследований на клиническом материале. Показано, что в отличие от нормальных клеток, высокозлокачественные лимфомные клетки экспрессируют β_{III} -тубулин – изотип, ассоциированный с опухолевой прогрессией.

Пашковская И.Д., Нечипуренко Н.И., Прокопенко Т.А.

Показатели про-, антиоксидантной системы и метаболиты углеводного обмена у пациентов с разорвавшимися артериальными аневризмами в различные сроки после нейрохирургического лечения

ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии», г. Минск, Беларусь

Известно, что из всех внутричерепных кровоизлияний на долю аневризматических приходится 85%. Точные механизмы, лежащие в основе формирования артериальных аневризм (АА) головного мозга и их разрыва остаются неясными, однако в настоящее время известно, что гемодинамические нарушения с развитием гипоксии тканей головного мозга, окислительный стресс и нейрогенное воспаление являются ключевыми элементами в развитии церебральной сосудистой патологии [1].

Цель – изучить изменения показателей про-, антиоксидантной системы и метаболитов углеводного обмена у пациентов с разорвавшимися АА до и в различные сроки после нейрохирургического лечения.

Методы исследования. Обследовано 18 пациентов с разорвавшимися АА в возрасте $52,7 \pm 7,4$ лет; биохимические данные анализировали до

клипирования аневризмы, на 10-12-е сутки после операции и через 11-13 месяцев. Медиана размера аневризмы в группе составила 7 (5-10) мм. Нормальные значения изучаемых показателей были получены у 27 практически здоровых лиц (возраст $47,4 \pm 13,8$ лет, $p > 0,05$ относительно возраста пациентов). Определяли концентрации лактата и пирувата, рассчитывали коэффициент лактат/пируват (Л/П); исследовали концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П) и активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина. При статистической обработке результатов применяли программу Statistica 10.0, использовали непараметрические методы.

Результаты. До оперативного лечения у пациентов установлено статистически значимое повышение концентрации лактата ($p=0,009$) и соотношения Л/П ($p=0,002$); выявлены нарушения равновесия в про-, антиоксидантной системе крови в виде повышения содержания ТБК-П до 2,4 (2,2-2,9) мкмоль/л против 1,8 (1,6-2,7) у здоровых лиц и снижения активности СОД до 76,2 (72,1-114) Е/мл ($p=0,02$) против 99,6 (85,8-117,6) в норме. Вероятно, геморрагическое повреждение головного мозга вызывает избыточную выработку активных соединений перекисного окисления липидов, вырабатываемых активированными клетками глии, которые обладают повреждающим действием и способны оказывать негативное воздействие на сосудистую стенку и межклеточные структуры мозга.

На момент выписки из стационара и через 11-13 мес. после нейрохирургического лечения у пациентов данной группы соотношение Л/П оставалось повышенным и достоверно отличалось от нормальных значений ($p=0,001$ и $p=0,003$ соответственно). На 10-12-е сутки после клипирования АА установлено повышение содержания ТБК-П ($p=0,04$) относительно нормы при увеличении активности СОД ($p_1=0,049$) относительно данных до лечения. Спустя 11-13 мес. наблюдения в группе пациентов выявлена нормализация про-, антиоксидантного состояния крови: концентрация ТБК-П составила 2,2 (1,8-2,5) мкмоль/л, активность СОД – 121,5 (94,5-143,3) Е/мл.

Заключение. Таким образом, у пациентов с разорвавшимися АА выявлены признаки нарушения углеводно-энергетического обмена, на что указывают высокий уровень лактата и соотношения Л/П в крови и дисбаланс в про-, антиоксидантной системе по сравнению со здоровыми лицами, что обусловлено кровоизлиянием в субарахноидальное пространство головного мозга. В процессе динамического наблюдения пациентов на момент выписки из стационара и спустя год после оперативного лечения установлена нормализация про-, антиоксидант-

ного состояния крови при сохранении повышенного уровня соотношения Л/П. Выявленные особенности развившихся патофизиохимических реакций позволяют оптимизировать комплексное послеоперационное лечение этой патологии с учетом выявленных метаболических перестроек.

Литература

1. Xi G., Keep R.F., Hoff J.T. Mechanisms of brain injury after intracerebral hemorrhage // Lancet Neurol. – 2006.- Vol. 5. – P. 53-63

Побойнев В.В.¹, Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.²

Структурная изменчивость белков

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

Причиной развития конформационных заболеваний является нарушение процесса фолдинга белка [1]. На сегодняшний день известно много заболеваний из этой группы: болезнь Крейтцфельда-Якоба, Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, Альцгеймера, Паркинсона и др. [2]. Структурным переходам белки различных классов подвержены в разной степени, при этом на структурные изменения оказывает влияние как аминокислотный, так и пентапептидный состав белка.

Цель – определение видов структурной нестабильности в белках четырёх структурных классов.

Материал и методы исследования. В данной работе использовались выборки, состоящие из 100 негомологичных белков класса «альфа/бета», «альфа + бета», «all alpha», «all beta». Для определения гомологичности белков использовался алгоритм Decrease Redundancy. В выборки включены лишь те белки, для которых существует хотя бы одна аминокислотная последовательность со 100% идентичностью к исследуемой. Элементы вторичной структуры определяли с помощью алгоритма DSSP. Пентапептидный состав рассчитывали с учётом того, что все аминокислоты были разделены на гидрофобные (O) и гидрофильные (W), сформировав 32 варианта. Разделение элементов вторичной структуры на пентапептиды проводилось скольжением с шагом в одну аминокислоту, при условии, что вариабельный аминокислотный остаток занимает третье положение в пентапептиде. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью t-критерия для относительных величин.

Результаты. Рассчитан процентный состав аминокислотных остатков, входящих в структурно изменчивые области белков четырёх структурных классов: для альфа-спиральных белков он равен $10,64 \pm 0,20\%$,

для бета-структурных белков – $10,93 \pm 0,22\%$, для белков «альфа/бета» – $7,59 \pm 0,15\%$, для белков «альфа + бета» – $11,50 \pm 0,21\%$.

Таким образом, самыми нестабильными белками являются представители класса «альфа + бета», что также подтверждается термодинамическими расчётами. Во всех исследуемых классах выявлены области, в которых возможны переходы из альфа-спиралей в неструктурированное состояние (НС), из бета-тяжей в неструктурированное состояние (ЕС) и соответствующие им обратные переходы. В альфа-спиральных белках выявлено $6,37 \pm 0,16\%$ аминокислотных остатков в изменчивых областях типа НС и $0,45 \pm 0,044\%$ – в областях типа ЕС, в бета-структурных – $1,18 \pm 0,077\%$ в изменчивых областях типа НС и $5,64 \pm 0,16\%$ – в областях типа ЕС. В белках класса «альфа/бета» найдено $3,16 \pm 0,099\%$ аминокислотных остатков в изменчивых областях типа НС и $1,98 \pm 0,079\%$ в областях типа ЕС, а в белках класса «альфа + бета» – $3,77 \pm 0,12\%$ в областях типа НС и $3,34 \pm 0,12\%$ в областях типа ЕС. Структурно неустойчивых областей типа ЕС и НС статистически больше в классе «альфа + бета» по сравнению с классом «альфа/бета».

В мотивах типа ЕС всех классов белков, кроме бета-структурных, встречаемость аланина статистически меньше, чем в среднем в бета-тяжах и в койле (Е+С), бета-тяжах (Е), койле (С). Частота встречаемости лизина в мотивах НС всех классов белков, кроме бета-структурного, статистически выше, чем в альфа-спиралях и неструктурированном состоянии (Н+С), койле (С), что связано со структурной изменчивостью С-концов альфа-спиралей. В структурно изменчивых регионах типа НС белков смешанных классов встречаемость абсолютно гидрофобного пентапептида ООООО статически ниже, чем в альфа-спиралях и в койле, но частота абсолютно гидрофильного пентапептида WWWWW статистически выше только в белках класса «альфа + бета» по сравнению с частотами встречаемости в альфа-спиралях и в неструктурированном состоянии.

Выводы. Белками, которые в большей степени подвержены структурным переходам, являются белки класса «альфа + бета». Структурные переходы из альфа-спиралей в неструктурированное состояние или обратно происходят в областях белков с повышенной частотой встречаемости лизина, а из бета-тяжей в койл и обратно – в областях, обеднённых аланином.

Литература

1. Outeiro, T. F. Mechanisms of disease II: cellular protein quality control / T. F. Outeiro, J. Tetzlaff // *Semin Pediatr Neurol.* – 2007. – Vol. 14(1). – pp. 15-25.
2. Gao, X. Quality control of the proteins associated with neurodegenerative diseases / X. Gao, Hu H // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* – 2008. – Vol. 40(7). – pp. 612-8.

Покачайло Л.И., Повалишев В.Н., Назаров В.А., Турук Е.В.
**Сравнительное химико – фармакологическое исследование
препаратов на основе висмута калия цитрата**
Иностранное производственное унитарное предприятие
«Мед-интерпласт», г. Минск, Беларусь

Препараты на основе висмута калия цитрата в настоящее время широко используются в гастроэнтерологии в связи с их высокой эффективностью в лечении эрозивноязвенных поражений желудка. Такой выбор обусловлен широким спектром механизмов терапевтического действия соединений висмута, которые в том числе включают в себя антихеликобактерную активность и способность взаимодействовать со слизистой оболочкой желудка и образовывать на поверхности защитные висмут-гликопротеиновые комплексы. Вместе с тем эффективное терапевтическое воздействие препаратов данной группы возможно только при условии своевременного высвобождения необходимого количества действующего вещества в желудке и образовании коллоидного раствора. Для сравнительного изучения лекарственных средств (ЛС) «Де-Висмут», капсулы 120 мг производства «Мед-интерпласт»

и препарата-оригинатора «Де-Нол», таблетки покрытые оболочкой, 120 мг производства Astellas Pharma Europe B.V., Нидерланды были изучены основные физико-химические свойства, ответственные за проявление гастропротекторного действия: распадаемость дозированных единиц и способность образовывать устойчивые коллоидные растворы в физиологических условиях.

Эксперименты по определению распадаемости проводили согласно действующей нормативной документации [1]. Оригинальное ЛС «Де-Нол», согласно требованиям спецификации, должно полностью распадаться за время, не превышающее 15 минут. Капсулы «Де-Висмут» должны распадаться течение не более 15 мин с использованием пластмассовых дисков. Согласно полученным экспериментальным данным, оба ЛС соответствуют требованиям спецификаций в следующих средах: вода, 0,01 М раствор хлористоводородной кислоты, 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты. Полученный результат в отношении ЛС «Де-Нол» (5,0 мин, 5,5 мин, 5,5 мин соответственно) находится в хорошем соответствии с результатами, приведенными в литературе [2]. ЛС «Де-Висмут» производства «Мед-интерпласт» обладает схожей распадаемостью (4,0 мин., 3,5 мин., 3,0 мин. соответственно). Поскольку растворимость желатиновой оболочки в кислой среде улучшается, то наблюдается сокращение времени распадаемости капсул с увеличением концентрации хлористоводородной кислоты.

Изучение стабильности образующихся в кислой среде коллоидных растворов соединений висмута проводили согласно рекомендациям, опубликованным в [3]. Была изучена динамика седиментации комплекса висмута оксихлорида – висмута цитрата ЛС «Де-Висмут» и ЛС «Де-Нол» в модельных условиях (0,1 М раствор хлористоводородной кислоты). Показано, что через 60 мин. наблюдается сопоставимый объём надосадочной жидкости в случае обоих ЛС. Объём гелеобразного осадка, полученный после центрифугирования при 1000g в течение 2 мин был одинаков для ЛС «Де-Висмут» и ЛС «Де-Нол» и составлял около 15 мл.

Таким образом, можно заключить, что ЛС «Де-Нол» и ЛС «Де-Висмут» характеризуются быстрой распадаемостью в интервале физиологических значений pH желудка, что позволяет идентичным образом высвобождать действующее вещество в желудке и обеспечивать одинаковую эффективность терапевтического действия. Получены данные, согласно которым ЛС «Де-Нол» и ЛС «Де-Висмут» образуют в кислой среде стойкие коллоидные растворы, которые обладают схожими физико-химическими свойствами и характеризуются низкой скоростью седиментации образующихся оксихлоридных комплексов висмута, что позволяет сделать вывод о сопоставимом гастропротекторном действии сравниваемых препаратов.

Литература

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь. (ГФ. РБ II): Разработана на основе Европейской фармакопеи. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Тип. «Победа», 2012. – 1220 с.
2. А.В. Москалев и др. "Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология" №2 (34), 2016, с. 34 – 47.
3. Н.М. Хомерики, И.А. Морозов. "Медицинский совет" №11, 2017, с. 112 – 119.

Полюян О.С., Костюк С.А.

Разработка метода мультиплексной ПЦР в режиме реального времени для определения уровней нормализованной экспрессии генов матриксных металлопротеиназ при артропатиях коленного сустава

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

Артропатии коленного сустава сопровождаются наличием воспалительного процесса, образованием остеофитов и дегенерацией суставного хряща. Несмотря на четкое понимание причин возникновения артропатий, до конца не изучены механизмы нарушений физиологического синтеза и деградации суставного хряща при прогрессирующе-

нии заболевания. Матриксные металлопротеиназы (ММП) играют основную роль в деструкция суставного хряща при артропатиях коленного сустава.

Цель исследования: оценить уровни нормализованной экспрессии генов ММП-1, ММП-3 и ММП-9 в хондроцитах синовиальной ткани коленного сустава.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 25 пациентов с реактивной артропатией коленного сустава (группа 1), 25 пациентов остеоартрозом с (группа 2); группу сравнения составили 20 пациентов с травматической артропатией коленного сустава (группа 3). Выделение РНК из хондроцитов синовиальной ткани коленного сустава проводили с помощью Rneasy Mini Kit (Qiagen, США), обратнo-транскрипционную ПЦР (ОТ-ПЦР) – согласно инструкции производителя набора реагентов One-Step qRT-PCR Kit (Qiagen). Дизайн праймеров осуществляли с использованием программного приложения Primer3 v.0.4.0. Температура плавления праймеров составила 57°-63°С, размер продукта амплификации – 90-120 пар оснований. Качество и количество выделенной РНК оценивали с спектрофотометрически. Состав реакционной смеси: 5 мкл DyNAmo Flash SYBR Green (Thermo) (2X), 1,5 мкл кДНК, 1 мкл (5 пм/мкл) каждого праймера. Программа амплификации: 95°С – 10 мин, циклирование (40 циклов) 95°С – 20 с, 60°С – 40 с. Анализ кривых плавления и детекция полученных результатов осуществлялась автоматически с использованием программного обеспечения прибора «Rotor-Gene 6000» (Corbett research, Австралия). Для нормализации уровня экспрессии таргетных генов в зависимости от показателя порогового цикла амплификации в качестве house-keeping гена, используемого в качестве внутреннего контроля, использовали ген глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GADPH). Статистическая обработка проводилась с помощью пакета прикладных программ «SPSS версия 16» (SPSS Inc.). Количественные данные представлены в виде значений медианы и квартилей Me (Q25/75). Для сравнения независимых групп количественных переменных применялся критерий Манна-Уитни. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят уровень $p < 0,05$.

Результаты. Полученные значения уровней экспрессии ММП-1 составили: для группы 1 – 18,96 (4,18/48,32)%, для группы 2 – 211,64 (104,79/307,14)%, для группы 3 – 21,96 (6,91/51,15). Критерий Манна-Уитни для групп 1-2 составил $Z = -6,294$, $p = 0,009$, для групп 2-3 $Z = -6,106$, $p = 0,012$ что свидетельствует о наличии статистически значимых различий, тогда как для групп 1-3 статистически значимых до-

стоверных различий выявлено не было ($Z = -0,557$, $p=0,611$). Уровни нормализованной экспрессии гена ММР-3 для группы 1 составили $Me (Q_{25}/75)$ 16,19 (7,99/35,27)%, для группы 2 – 15,14 (7,67/31,35)%, для группы 3 – 121,94 (67,59/240,07)%. Использование критерия Манна-Уитни позволило сделать вывод о наличии статистически достоверных различий для исследуемых групп 1-3 ($Z = -6,171$, $p=0,010$) и 2-3 ($Z = -6,171$ $p=0,022$), тогда как для групп 1-2 статистических различий выявлено не было ($Z = -6,677$ $p=0,509$). При сравнении уровней нормализованной экспрессии гена ММР-9 $Me (Q_{25}/75)$ для группы 1 составили 65,07 (32,84/131,40)%, для группы 2 – 84,47 (39,60/197,09)%, для группы 3 – 16,15 (6,96/28,74)%. Критерий Манна-Уитни выявил наличие статистически достоверных различий для групп 1-3 ($Z = -5,663$, $p=0,018$) и 2-3 ($Z = -6,031$ $p=0,034$). Для групп 2-2 $Z = -6,663$, $p=0,507$ что свидетельствует об отсутствии статистических различий.

Заключение. Профиль генетической экспрессии матриксных металлопротеиназ зависит от этиологического фактора артропатий коленного сустава: при реактивной артропатии наблюдается статистически значимое достоверное усиление экспрессии гена ММР-9; остеоартрит сопровождается усилением экспрессии генов ММР-1 и ММР-9; наличие травматического повреждения коленного сустава характеризуется усилением экспрессии гена ММР-3 ($p<0,05$).

Popinako A.V.

Analysis of serotonin 5-HT₃ receptor and its models: identification of conformational state of the structure

A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center

of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Ion channels form a major class of integral transmembrane proteins involved in the regulation of fundamental cellular processes [1]. The main function of ion channels is the selective movement of ions through the membranes. The structural and functional diversity of ion channels, as well as their participation in the vital systems of the body causes an increased interest in their study. The importance of research of channels' structures is underscored by the identification of numerous "channelopathies", caused by ion channel mutations [2]. However, the complex molecular architecture of eukaryotic ion channels, which include large non-membrane domains, is often an obstacle to structural studies by experimental methods [3]. Thus, only one atomic X-ray structure of the pentameric ligand-dependent mammalian channel of the serotonin 5-HT₃ receptor (pdb id 4PIR [4]) and one Cryo-EM structure (pdb id 6BE1 [5]) are known at the present. Based on the available experimental data on this channel, the conformational state

of this channel can not be determined. In this regard, the actual task is to compare the structure of serotonin 5-HT₃ receptor and its models, built by modeling homology. Structures with pdb id 2BG9 [6], 4AQ9 [7] for modeling 5-HT₃ receptor closed and open conformations respectively were used as templates for modeling. The obtained models of open and closed channels of 5-HT₃ receptor differ in the area of the internal threshold: the pore radius in this area is greater in open conformation models, compared with the closed conformation model and the structure of 5-HT₃ receptor (4PIR). In the membrane part of the 5-HT₃ receptor and the model of the closed conformation, the oxygen of the hydroxyl groups of threonine in the M2 helices form the area of the minimum radius of the pores. According to the molecular dynamics data obtained by us, hydrated sodium ions are unable to pass through this section of the channel 5-NT₃ of the receptor. Thus, the data obtained suggest that the structure of the 5-HT₃ receptor is more consistent with the closed conformation. The work was carried out with the financial support of the Russian Foundation for basic research, agreement № 16-34-60252.

The MD research has been carried out using the equipment of the shared research facilities of HPC computing resources at Lomonosov Moscow State University. This work structural analysis has been carried out using computing resources of the federal collective usage center Complex for Simulation and Data Processing for Mega-science Facilities at NRC “Kurchatov Institute” (ministry subvention under agreement RFMEFI62117X0016), <http://ckp.nrcki.ru/>.

References

1. Jegla T. et al. Evolution of the human ion channel set. Comb Chem High Throughput Screen (2009). doi: 10.2174/138620709787047957
2. Spillane J. et al. Genetic neurological channelopathies: molecular genetics and clinical phenotypes. Neurogenetics (2015). <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp-2015-311233>
3. Bill R. et al. Overcoming barriers to membrane protein structure determination. Nat Biotechnol (2011) doi:10.1038/nbt.1833.
4. Hassaine G. et al. X-ray structure of the mouse serotonin 5-HT₃ receptor. Nature. (2014) 10.1038/nature13552
5. Basak S. et al. Cryo-EM structure of 5-HT_{3A} receptor in its resting conformation. Nat Commun.(2018). Doi :10.1038/s41467-018-02997-4
6. Unwin. Refined Structure of the Nicotinic Acetylcholine Receptor at 4Å Resolution. J.Mol.Biol. (2005) DOI: 10.1016/j.jmb.2004.12.031
7. Unwin et al. Gating Movement of Acetylcholine Receptor Caught by Plunge-Freezing. J.Mol.Biol. (2012) 10.1016/j.jmb.2012.07.010

Analysis of the interactions between ABP1 and ARP2/3 complex in two binding sites by molecular dynamics simulation

¹A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center

of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, 1 Leninskie gory, bld 12, Moscow, Russia

The relevance of the study is associated with the problems of actin filaments branching during changing the shape, movement and morphogenesis of cells. Violations in these processes are observed in a number of diseases (myopathy, hearing impairment, cancer).

The Arp2/3 complex plays a key role in nucleating actin filaments branching. The actin nucleator Arp2/3 complex consist of seven subunits, two of them closely resemble actin monomers. Arp2/3 complex is inactive in the cytoplasm, but to prime it for nucleation is should be activated by nucleation-promoting factors (NPFs). NPFs could be classified into two types: type I and type II. Type I NPFs include WASP, WAVE/SCAR, WASH. Type II NPFs including Abp1 and Cortactin, bind to f-actin. Yet it was shown that Abp1 can protect branches from Gmf-initiated debranching. Abp1 contains an N-terminal actin depolymerization factor (ADF)-homology domain that possesses high level of homology with the ADFH domains from Cofilin and Gmf (the glia maturation factor). Thus Abp1 may bind to Arp2/3 complex at the same place, as Gmf. Additionally, the point mutation in ADFH domain of Abp1 has been identified, that interferes with its function. We have recently used electron microscopy (EM) and single-particle analysis to determine the 3D structure of Abp1-bound Arp2/3 complex. In this study, we demonstrated that Abp1 binds to Arp2/3 complex with a 2:1 molar ratio and successfully protects the branches from Gmf action. We demonstrated that Abp1 can dimerise through interactions of its C-terminal parts and while the ADF-homology domain of one Abp1 molecule in the dimer may bind Arp2/3 complex, the ADF-homology domain of the other molecule is available to bind F-actin. Here we performed the molecular modelling of the interactions of ADFH domains with Arp2/3 complex in two binding sites, found previously by the combined EM-MD approach (Popinako, 2018). We have predicted the specific Arp2/3 complex surface residues that are involved in interactions with ADFH domain of Abp1 (wild type (WT) and bearing the point mutation (1-5)), and established the background of stabilization the branch junctions by Abp1. Using molecular dynamics simulations we demonstrated the quantitative and qualitative changes in hydrogen bonds upon binding the Abp1. We identified the specific amino acid residues in the Abp1 and Arp2/3 complex

that stabilize the interactions. Phylogenetic and structural analyses of the recently defined Abp1 binding site on Arp3 subunit indicate a new mechanism for Arp2/3 complex activation that involves the interactions between the Arp2/3 complex and Abp1 at two binding sites. The MD studies were supported by RFBR (16-34-60252 to A.P.). The MD research has been carried out using the equipment of the shared research facilities of HPC computing resources at Lomonosov Moscow State University. This work structural analysis has been carried out using computing resources of the federal collective usage center Complex for Simulation and Data Processing for Mega-science Facilities at NRC "Kurchatov Institute" (ministry subvention under agreement RFMEFI62117X0016), <http://ckp.nrcki.ru/>.

Prisnyi A.A.

The effect of osmotic stress on the microrelief of the medicinal leech hemocytes

Belgorod Department of FSBSI "Federal Scientific Centre All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences", Belgorod, Russia

Relief or cellular surface topography is highly mobile characteristics: it varies depending on the functional state of the cell. Surface roughness is a set of irregularities forming microrelief. Quantitative evaluation of membrane surface roughness is of practical importance, since it allows identifying the effect of surface homogeneity and heterogeneity on the processes of capture of foreign objects and resistance to hypo- and hyperosmotic stress.

Hirudo medicinalis (Linnaeus, 1758) hemocytes were used as subjects of research, previously classified into four types by morphofunctional features. The hemolymph was divided into three parts: 10 mcl of NaCl solution of a certain concentration (hypotonic solution – 0.4% NaCl, isotonic solution – 0.8% NaCl, hypertonic solution – 1.2%) was added to each part of hemolymph. Incubation was conducted for 1 minute. The research was conducted using Integra Vita NT-MDT scanning probe microscope in atomic force spectroscopy mode. We have analyzed the following amplitude average surface roughness parameters in accordance with the international standards. Changing under the influence of environmental factors, cellular surface microrelief reflects the features of their functional status. Using atomic force microscope images allowed estimating the behavior of *H. medicinalis* hemocyte surface microrelief after incubation in solutions of different concentrations. The reduction in osmotic pressure leads to a significant volume increase of all cell types. On scanning images, hemocytes

have a spherical shape and smooth membrane without folds. Micro-elevations of the surface dominate, and large elevations and depressions were not detected. In a hypertonic environment, surface of the blood cells of medicinal leech varies considerably. Protrusion of cytoplasmic granules, and fibrils of the cytoskeleton through plasma membrane were detected; micro-elevations are absent. In hypotonic environment, heights of the peaks and depths of the depressions increase; in case of the increase in osmotic pressure, relief smoothing is observed. Changes in the symmetry of the distribution of various relief structures when changing the osmotic pressure were not observed. The entire cellular surface is uniformly transformed under the effect of uncharacteristic salinity.

Roughness coefficient of all cell types in this environment increases, however this is not always associated with an increase in the number of micro elevations – deepening of depressions and increase in the height of micro-relief elements also plays a significant role. The changes in the surface topography of hemocytes are described in contact interactions with solid substrate, and when exposed to environments other than physiologically normal. An increase/decrease in the thickness of the disturbed layer in hypotonic and hypertonic environment respectively is characteristic for cells that perform phagocytic function, with maintenance or increase in the number of micro elevations per unit area. The prevalence of invaginations in hemocytes with abundant content of granules is observed when exposed to conditions with increased osmotic pressure.

Prisnyi A.A., Moiseeva A.A., Skvortsov V.N.

The effect of fluoroquinolones on chick blood viscosity

Belgorod Department of FSBSI "Federal Scientific Centre All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences",
Belgorod, Russia

The blood viscosity coefficient depends on many chemical and morphological factors, namely the plasma viscosity, the number and size of circulating cells, the salt content and carbon dioxide. Blood viscosity is affected by feeding, water regime and even time of day. Viscosity of plasma and serum depends on the content of albumin, globulins, and the amount of salts. The measure of viscosity is hydration and oncotic pressure from swelling of plasma and serum proteins. It is known that an increase in blood viscosity is associated with the occurrence of a number of pathological conditions.

Fluoroquinolones - a group of rapidly developing synthetic antibacterial agents. As a result of the use of fluoroquinolones, in some cases, there are some mild changes, manifested as anemia, thrombocytopenia, eosinophilia,

increased erythrocyte sedimentation rate, leukopenia or leukocytosis. In connection with these adverse reactions, the question arises about the effect of fluoroquinolones on the blood system.

The use of antimicrobial agents in modern poultry raising raises a number of questions concerning the effects of antibiotics, both on the physiological state of birds and on the physicochemical properties of blood. In connection with the above, the purpose of the presented work was to study the effect of antimicrobial drugs of the fluoroquinolone group on the chicken's blood viscosity. To achieve this goal, three groups of day-old chickens were formed: control, experiment 1 and experiment 2. For ten days, the chickens of the experimental groups were fed with norfloxacin and moxifloxacin in a dose of 200 mg / l water, respectively. The selection of blood for analysis carried out on the first, third, fifth, seventh and ninth day after the withdrawal of drugs. Blood obtained by intracardiac puncture was stabilized with sodium citrate. Blood viscosity was determined using a VK-4 viscometer. Studies have shown that the blood viscosity of chickens in the control group during the experiment ranged from 3.07 to 3.32 Pa·s. Accordingly, these values were taken as normal. The blood viscosity of chickens treated with norfloxacin, with a high degree of certainty, decreased on the fifth day after drug withdrawal by 17%. By the end of the experiment, the blood viscosity values returned to normal values. Feeding of moxifloxacin led to certain changes in blood viscosity indices. On the first day after the drug was discontinued, the viscosity of the blood of chickens significantly decreased by 11%, on the fifth day – by 13% compared with the control. By the ninth day, blood viscosity values returned to control values.

Thus, it has been established that the use of norfloxacin and moxifloxacin as a whole does not have a significant effect on the blood viscosity indices without disturbing the physicochemical properties of the internal environment of the body.

*Прокопенко Т.А.¹, Пашковская И.Д.², Нечипуренко Н.И.²,
Зажогин А.П.³, Патапович М.П.³*

**Оценка динамики метаболизма ЖНЭ в организме пациентов
с заболеваниями мозга методом атомно-эмиссионной
спектроскопии образцов плазмы крови**

¹МГЭИ им. А.Д. Сахарова Белорусского государственного
университета, г. Минск, Беларусь

²ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии», г. Минск, Беларусь

³Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Ишемические повреждения головного мозга, главным образом, цереброваскулярная болезнь, расценивается в настоящее время как синдром

острого и хронического повреждения мозга. Ввиду высокой распространённости ишемическая болезнь мозга представляет собой серьёзную медико-социально-экономическую проблему. Особенно актуальным является изучение возникновения артериальной аневризмы головного мозга, как основной причины развития геморрагического инсульта. Это обуславливает поиск патогенетически обоснованных методов лечения внутримозговых катастроф.

Возникновение церебрального инсульта всегда является результатом целого комплекса патофизиологических воздействий. Сюда относятся и нарушения функционально-морфологических свойств сосудов мозга, и дисрегуляция системной гемодинамики и гемостаза организма.

Установление взаимосвязи между состоянием организма и изменением содержания жизненно необходимых элементов (ЖНЭ) при патологии является требованием сегодняшнего дня современной медицины. В этой связи для визуализации динамики патологических процессов особое значение приобретает оценка не только общего и сиомиунутного, но, более всего, ретроспективного накопления и распределения ЖНЭ, в первую очередь – кальция, в организме человека. Это в значительной степени может помочь профилактике и диагностике болезни и выработке эффективных мер лечения.

Целью данной работы является изучение возможности проведения методами атомно-эмиссионной спектроскопии мониторинга и оценки динамики изменения концентрации ЖНЭ в образцах плазмы крови пациентов с аневризмами головного мозга (АГМ). Полученные данные могут характеризовать степень отклонений концентрации ЖНЭ от нормы в процессе проведения лечения.

Общее содержание жизненно необходимых элементов (ЖНЭ) в плазме крови определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии на приборе ЭМАС 200Д. Для проведения анализов использовали угольные электроды диаметром 6 мм марки ОСЧ-7-3 с цилиндрическим углублением диаметром 4 мм на торце. Анализируемые растворы плазмы крови в количестве 20 мкл наносили в углубление электрода и высушивали до сухого состояния под излучением ИК-лампы в течение 30-40 мин. Подготовленные пробы сжигали в дуге переменного тока. Сила тока 6 А.

Анализ полученных результатов показал значительное повышение содержания алюминия, железа, кальция, цинка у всех пациентов как до, так и после операции. Наблюдается небольшой недостаток магния. Качественно это может быть объяснено следующим образом. Основным возбуждающим нейротрансмиттером центральной нервной системы (ЦНС) является глутамат. Он участвует в формировании высших когнитивных процессов. В больших концентрациях глутамат яв-

ляется нейротоксином, результатом чего является гибель нейронов. В здоровой ткани мозга нейроны и клетки нейроглии поглощают «лишний» глутамат из межклеточного пространства. У клеток же ишемизированной области мозга для этого недостаточно энергии. Недостаточность обратного захвата глутамата способствует перевозбуждению рецепторов, регулирующих содержание K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Cl^- и других микроэлементов во вне- и внутриклеточном пространстве. Это обуславливает раскрытие контролируемых ими кальциевых каналов и приводит к дополнительному притоку ионов Ca^{2+} в нейроны и высвобождению внутриклеточного Ca^{2+} из депо. Таким образом, анализ содержания химических элементов в плазме крови у пациентов с аневризмами позволил выявить особенности микроэлементных изменений в организме, что влечет за собой нарушения протекания многих биохимических и физиологических реакций при гипоксическом повреждении головного мозга. Установлено статистически значимое одностороннее снижение суммарного уровня магния в плазме крови. Показано достоверное превышение нормальных значений суммарного содержания для алюминия, кальция, железа и цинка. Выявленные микроэлементозы могут влиять на особенности течения заболевания и обосновывают целесообразность дополнения терапии медикаментозными комплексами для коррекции минерального обмена.

Прохорова Т.В., Каспер Т.И., Побойнев В.В., Латушко Т.В.

Изучение адсорбции катионов тяжёлых металлов некоторыми овощами и фруктами

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Физиологическое действие металлов на организм человека и животных зависит от природы металла, типа соединения, в котором он существует в природной среде, а также от его концентрации [1]. Многие тяжёлые металлы, такие, как железо, медь, цинк, молибден, кобальт, марганец, участвуют в биологических процессах и в определённых количествах являются микроэлементами, необходимыми для функционирования растений, животных и человека. С другой стороны, тяжёлые металлы и их соединения могут оказывать вредное воздействие на организм человека, способны накапливаться в тканях, вызывая ряд заболеваний [2]. По данным Всемирной организации здравоохранения, причиной 80% болезней людей является сложившаяся экологическая напряжённость [3].

Целью данной работы является изучение эффективности сорбционных свойств некоторых овощей и фруктов для снижения содержания катионов тяжёлых металлов.

Материалы и методы. При проведении исследований использованы следующие реактивы: 1М MnCl_2 , 0,1н KMnO_4 , 1М FeSO_4 , 0,5М H_2SO_4 , 0,5М CrCl_3 , 1М KOH , 3% р-р H_2O_2 , 10% р-р KI , 0,0935н $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,5н Трилон Б, 0,1М HCl , CuSO_4 , индикаторы – крахмал и эриохром чёрный Т; капуста белокачанная сорта Ринда F1, морковь сорта Абако, яблоко сорта Антоновка, кожура апельсина и банана.

Количественное определение катионов Mn^{2+} , Fe^{2+} , проводили методом перманганатометрии. Методом иодометрии определяли содержание катионов Cr^{3+} , Cu^{2+} . Титриметрическим методом анализа с использованием реакции комплексообразования катиона металла с трилоном Б определяли содержание Pb^{2+} .

Результаты. В результате проведенных исследований установлено: процент адсорбции ионов Mn^{2+} : капустой – $81,1 \pm 1,74$, морковью – $67,7 \pm 1,69$, яблоками – $55,3 \pm 1,60$, кожурой апельсина – $81,9 \pm 1,28$, кожурой банана – $85,0 \pm 1,24$; процент адсорбции ионов Fe^{2+} капустой – $52,4 \pm 9,78$, морковью – $58,4 \pm 3,22$, яблоками – $71,3 \pm 2,71$, кожурой апельсина – $60,8 \pm 0,76$, кожурой банана – $59,9 \pm 5,58$; процент адсорбции ионов Cr^{3+} капустой – $60,0 \pm 3,65$, морковью – $65,4 \pm 6,70$, яблоками – $67,2 \pm 4,38$, кожурой апельсина – $78,54 \pm 4,83$, кожурой банана – $45,66 \pm 1,33$; процент адсорбции ионов Pb^{2+} капустой – $34,37 \pm 1,35$, морковью – $55,70 \pm 4,67$, яблоками – $43,17 \pm 4,81$, кожурой апельсина – $60,13 \pm 3,56$, кожурой банана – $55,42 \pm 3,56$; процент адсорбции ионов Cu^{2+} капустой – $53,50 \pm 1,14$, морковью – $56,76 \pm 1,15$, яблоками – $46,99 \pm 2,30$. максимальная сорбционная способность наблюдалась по отношению к ионам марганца кожурой банана и составила $85,0 \pm 1,24$.

Выводы. Таким образом, экспериментально установлено, что капуста белокачанная сорта Ринда F1, морковь сорта Абако, яблоко сорта Антоновка обладают высокой эффективностью в качестве сорбентов и поглощают из растворов от 52% до 81% ионов тяжёлых металлов, таких как Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} . Кожура апельсинов и бананов способна выполнять функции фильтров-сорбентов катионов тяжёлых металлов, так как выводит из раствора до 82% токсинов.

Литература

1. Прохорова, Т. В. Исследование адсорбции тяжёлых металлов пектиновыми веществами. Минск: Белорусский медицинский журнал. – 2004. – №4. С. 82-84.
2. Барковский, Е. В. Современный курс химии элементов: учеб.-метод. пособие. В 2 ч. / Е. В. Барковский, А. И. Врублевский. Минск: МГМИ, 2000. Ч.1 184 с.
3. Чижов, А. Я. Современные проблемы экологической патологии человека: Учеб. Пособие – М.: РУДН. – 2008. – 611 с.: ил.

Using of contemporary methods of medical microimages automatic processing in practical oncology

¹ RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

² National Aviation University, Kiev, Ukraine

Pathohistological studying of tissues' sections of postoperative tumors' material or tissues' biopsy material is a "gold standard" for malignant neoplasm's (MN) diagnosis; it is also important for both clinical and pathological correlation and prognosis. Morphological studies are the basis for diagnosis' verifications, predicting of tumors' behaviors, therapy prescribing after the examination of cells' types, degree of their differentiation, mitotic activities, microscopic lymph vascular invasions, metastasis, nature of tumors' microenvironments, size of tumors, and presence of necrosis. Therefore, diagnosis and classification of breast cancer (BC) and prostate cancer (PC) are complicated processes that require careful analysis and accuracy of pathologists. Process of histological samples' preparation is labor-intensive; it is characterized by the variability of quality and types of protocols for techniques, reagents in different laboratories. Digital images processing is one of mainstreams in progress of medical microphotography data analysis aimed on the increase of decision-making reliability in clinical practice. Thus an improvement of diagnosis and prognosis of MN by computer automation of images' analysis using modern bioinformatics tools is important task indeed due to the possibility of highly precision results obtaining and, consequently, more early pathologies' revealing. Different types of methods like cluster analysis, algorithms of artificial neural networks (ANN) trainings, ANN methods, other mathematical methods in bioinformatics are prospective also for tasks' performing in processes of cytological, histological, immune histological, immune cytological analysis of images during BC and PC in contemporary clinical practice. Starting works in direction of tumors' sections images processing with consequent analysis using contemporary cluster methods the authors would like to present some obtained results with further their discussion. For today, we have started already the development of automatic methods which would be the parts of the software for automatic diagnostics and prognosis of BC and PC. The first part of this works would be based on segmentation procedures of H&E-stained images with 40× and 100× magnification. The second part of this works have to be the development of ANN and convolution neural network methods (CNN) and strategies which will be based on the mathematical algorithms, mechanisms, methods, procedures and practical func-

tion for achieving the mains goals and purposes of the software in practical medical and laboratory institutions of oncological profile.

Романовский И.В., Игнатчик Д.А., Житникова В.Ю.

Влияние пропилтиоурацила и диацетофенонилселенида на тиреоидный гормональный статус, состояние процессов перекисного окисления липидов и системы глутатиона в организме экспериментальных животных

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Одной из важнейших стратегических задач в области сохранения здоровья населения и обеспечения устойчивого развития стран до 2030 г. в Европейском регионе эксперты ВОЗ видят в необходимости регулирования и предотвращения неблагоприятного воздействия химических веществ на организм человека и, в первую очередь - на эндокринную систему. Все более очевидным становится, что именно разрушители эндокринной системы вносят самый высокий вклад в преждевременную смертность от неинфекционных заболеваний и наносят огромный экономический ущерб, в том числе и в Республике Беларусь [1,2].

Целью исследования явилось изучение уровней гормонов щитовидной железы, состояния процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния антиоксидантного статуса: уровней глутатиона, активности ферментов его метаболизма – глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) в крови и тканях (мозг, печень, селезенка) крыс при хроническом введении пропилтиоурацила и селенсодержащего органического соединения диацетофенонилселенида (ДАФС-25).

Материалы и методы. Опыты проведены на 50 крысах-самцах массой 180-260 г Пропилтиоурацил (ПТУ) (Sigma, Германия) в виде 0,02% водного раствора предоставляли животным из поилок при свободном доступе к ним в течение 21 суток. Оценку гормонального статуса экспериментальных животных проводили по изучению уровней общих и свободных гормонов щитовидной железы. В сыворотке крови определяли содержание тироксина (Т₄), трийодтиронина (Т₃), свободных Т₄ и Т₃, тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) методом иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи тест-систем (Япония). Прооксидантно-антиоксидантный статус организма крыс исследовали при помощи стандартных биохимических методик. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакета программ «Statistica 6.0».

Результаты. Показано что хроническое поступление с питьевой водой в организм животных пропилтиоурацила приводит к выраженно-

му снижению уровней как общих, так и свободных Т4 и Т3 и росту уровня ТТГ в крови, т.е. выраженному гипотиреозу. Нарушение синтеза гормонов щитовидной железы под влиянием пропилтиоурацила сопровождается существенным изменением состояния окислительно-восстановительных процессов в крови и тканях животных: снижение уровня МДА, активности СОД и каталазы в крови и ткани печени и снижением уровней восстановленного глутатиона в крови и печени. Введение ДАФС-25 гипотиреоидным животным существенно не влияло на уровни общих тиреоидных гормонов, но наблюдалось смещение баланса свободных тиреоидных гормонов в сторону уменьшения уровня свободного Т4 и увеличения уровня свободного Т3. Под влиянием селенсодержащего препарата у гипотиреоидных животных наблюдалась тенденция к нормализации показателей антиоксидантного статуса: увеличение до нормы сниженных уровней восстановленного глутатиона в крови и печени и некоторое повышение активности глутатионредуктазы в печени. В то же время уровни МДА и активность ферментов СОД и каталазы достоверно не изменялись. Актуальной задачей является создание системы постоянного мониторинга уровней химических токсикантов в окружающей среде, особенно влияющих на эндокринную систему, и предотвращение их попадания (в том числе и лекарственных) в воду и почву.

Литература

1. Постановление Совета Министров Республики Беларусь "О разработке проекта Национальной стратегии устойчивого развития Республики Беларусь на период до 2035 года" от 25 мая 2018г. 392
2. Профилактика неинфекционных заболеваний и борьба с ними в Беларуси: Аргументы в пользу инвестирования. Доклад ВОЗ, STEP 2016 (из доклада МЗ РБ Малашко В.А., 2018г.

Ростовцев В.Н.

Физико-химические биопроцессы

ГУ «РНПЦ медицинских технологий, информатизации, управления и экономики здравоохранения», г. Минск, Беларусь

Материя существует в виде вещества и поля (весь спектр волновых электромагнитных полей). Физика изучает процессы взаимодействия полей, поля и вещества и механические взаимодействия. Химия изучает процессы взаимодействия веществ на атомно-молекулярном уровне. Биология изучает процессы взаимодействия веществ и полей на всех уровнях биологической организации. Уже на атомно-молекулярном уровне чисто вещественных процессов не существует. Все химические процессы являются вещественно-волновыми. Это следует из факта корпускулярно-волнового дуализма. Биопроцессы на

атомно-молекулярном, макромолекулярном, надмолекулярном, клеточном, тканевом, органном и системном (не всегда) уровнях также являются вещественно-волновыми, то есть они являются физико-химическими. Каждый физико-химический биопроцесс имеет две неразрывно связанные компоненты – волновую и вещественную. При этом, волновая составляющая каждого биопроцесса в силу своей природы распространяется в окружающем пространстве, внося свой вклад в общее волновое поле организма. Это общее поле организма можно называть его волновой сферой или его биополем. Заметим, что биополе организма физически ничем не отличается от не биологических полей, кроме сложности своей организации, которая соответствует сложности всей совокупности биопроцессов в организме. Есть основания полагать, что на системном уровне организации в организме существуют чисто полевые биопроцессы. Так, ряд авторов развивают представления о волновом психопроессинге, в рамках которых мозг выполняет функции транслятора с волнового языка психопроессора на нейродинамический язык нервной системы организма.

Волновое поле организма является достаточно мощным для его выявления. На поверхности кожи напряженность волнового поля составляет около 3 мВ. Поскольку волновое поле организма содержит информацию о всех протекающих в организме биопроцессах, то оно является уникальным по информативности источником диагностических данных. Впервые идею волновой диагностики реализовал Я.О. Йодко-Наркевич (Белоруссия, 1891), который открыл способ визуализации волнового поля на поверхности кожи организма. Он назвал свой метод электрографией. Через 100 лет К.Г. Коротков (Россия, 1998) развил этот метод и он получил название газоразрядной визуализации (ГРВ). ГРВ является первым технологическим поколением волновой диагностики. Второе технологическое поколение волновой диагностики создал Х. Шиммель (Германия, 1978) и оно известно как вегеторезонансный тест (ВРТ) и как частотно-резонансная диагностика (ЧРД). Третье технологическое поколение волновой диагностики создал С.М. Закиров (Украина, 2001), развил В.Н. Ростовцев (Белоруссия, 2012) и метод получил название функциональная спектрально-динамическая диагностика (ФСД-диагностика). Наиболее общими характеристиками и, одновременно, основными отличиями ФСД-диагностики являются: (1) принцип распознавания образов вместо принципа измерения величин; (2) пассивность основного режима диагностики; (3) возможность дополнительного режима активного диагностического тестирования актуальности процессов по соответствующим маркерам; (4) наноэнергодиапазон излучаемой в режимах те-

стирования и коррекции мощности сигналов; (5) простота технологии и соответствующая доступность для любого врача; (6) оперативность диагностики: время основного обследования не более 1 мин. и время диагностического анализа врачом по одной системе организма до 10 мин в обычном режиме и до 2 мин – в режиме экспресс-диагностики; (7) мобильность аппаратуры (габариты сумки для ноутбука); (8) потенциальная универсальность диагностики рискогенетических и патогенетических процессов. (9) возможность автоматизации диагностики болезней и нозологических рисков.

Диагностическая точность ФСД-диагностики по результатам клинических испытаний и дополнительных исследований составляет 95% для распространенной патологии независимо от возраста пациента. Главным достоинством ФСД-диагностики является возможность диагностики актуальных индивидуальных рисков заболеваний и ранних (скрытых, латентных) стадий заболеваний для целей их индивидуальной профилактики и раннего лечения. Кроме больших диагностических возможностей, ФСД-диагностика предоставляет также возможности волновых методов оздоровления, индивидуальной профилактики и комплементарного лечения, а также возможности выбора индивидуально комплементарных лекарственных средств. Важно отметить, что средства ФСД-технологии являются перспективными для применения в научных исследованиях физико-химических биопроцессов, включая экспериментальные исследования в области биохимии, иммунологии, токсикологии.

Рудниченко Ю.А., Мелик-Касумов Т.Б.

Комплексное влияние пищевых добавок на некоторые биохимические показатели молодых самцов крыс в условиях хронической сердечной недостаточности

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь
Важнейшим условием обеспечения безопасности пищевых продуктов является соблюдение допустимой нормы суточного потребления пищевых добавок. В то же время, не учитывается, что спектр их применения непрерывно расширяется, и при формальном соответствии нормам может происходить значительное увеличение потребления. Также нельзя полностью предугадать их действие на организм в условиях патологии.

Цель исследования – изучить комплексное воздействие различных классов пищевых добавок на показатели липидного, белкового и углеводного обмена у молодых самцов крыс в условиях хронической сердечной недостаточности.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Вистар (n=78) массой 80-110 г (1,5 мес.). Выделены следующие экспериментальные группы животных: 1 группа – крысы, которые находились на стандартном рационе вивария; 2 группа – особи, получавшие комплексно глутамат натрия (E621, «Sigma», США) в дозе 720 мг/кг, бензоат натрия (E211, ЗАО «Пять океанов», Беларусь) в дозе 30 мг/кг и тартразин (E102, «Roha Dyechem», Индия) в дозе 45 мг/кг в течение 14 суток; 3 группа – животные, которым моделировали хроническую сердечную недостаточность (ХСН); 4 группа – крысы, получавшие стандартный рацион питания и смесь пищевых добавок на фоне развития ХСН.

Индивидуальное суточное количество потребляемых добавок определяли на основании средней массы животных в группе, и среднесуточного количества потребляемой воды – 20 мл/животное/сутки.

Модель хронической сердечной недостаточности создавали подкожной инъекцией изопреналина гидрохлорида («Sigma-Aldrich», США) в дозе 80 мг/кг дважды с интервалом в 24 часа. Через 14 суток (необходимых для формирования данной патологии) животных выводили из опыта. Схема эксперимента и протоколы опытов были одобрены комиссией по биоэтике Института физиологии НАН Беларуси.

Содержание общего белка, глюкозы, общего холестерина, холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) и холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) в сыворотке крови определяли с помощью наборов фирмы НТПК «Анализ Х», Беларусь.

Результаты и выводы. При развитии ХСН умеренного типа у молодых животных установлено значительное изменение в содержании основных показателей углеводного, липидного и белкового обмена. Напротив, введение в рацион питания крысам комплекса пищевых добавок не сопровождалось достоверными изменениями в содержании общего белка, глюкозы, общего холестерина, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП.

Добавление их на фоне развития ХСН приводило к увеличению ($p < 0,05$) концентрации общего холестерина на 15 % и 22 % по отношению к контролю и группе ХСН соответственно. Уровень ХС ЛПНП достоверно возрастал на 33 % по сравнению с группой ХСН.

При потреблении смеси пищевых добавок на фоне развития ХСН наблюдалось статистически значимое увеличение уровня общего белка по отношению к 3-ей группе. Концентрация глюкозы достоверно снижалась на 30 % и 31 % по сравнению с контролем и группой ХСН. Введение в рацион питания смеси пищевых добавок при хронической сердечной недостаточности сопровождается существенными изменениями в содержании общего холестерина, ХС ЛПНП, общего белка и

глюкозы, что указывает на наличие выраженных нарушений углеводного, липидного и белкового метаболизма по сравнению с группой ХСН.

Руткевич С.А., Лецик О.

Регистрация электроэнтерограммы тонкого кишечника человека с помощью аппаратно-программного комплекса Нейрон-Спектр-4

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь.

Периферическая электрогастроэнтерография – неинвазивный метод отведения электрических потенциалов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) с поверхности тела – был разработан в середине прошлого века М.А. Собакиным, а затем в 70-х годах модифицирован В.А. Ступиным и В.Г. Ребровым. Одновременная регистрация электроэнтерограммы и механограммы в 60-е годы позволила установить, что медленноволновая активность соответствует механическому движению кишечника и согласуется с результатами при регистрации биопотенциалов инвазивным способом [1], поэтому данный метод нашел применение в клинической гастроэнтерологии [2]. Для регистрации медленноволновой электрической активности ЖКТ применяется дифференциальный усилитель переменного тока с фильтрами, формирующими полосу пропускания частот 0,01-0,25 Гц, длительно неполяризующиеся электроды и ЭВМ. Используют 5 диапазонов частот, соответствующих частотам медленных волн отделов ЖКТ: толстая кишка 0,01-0,03 Гц, желудок 0,03-0,07 Гц, подвздошная кишка 0,07-0,13 Гц, тощая кишка 0,13-0,18 Гц, ДПК 0,18-0,25 Гц.

Цель исследования состояла в изучении возможности регистрации электроэнтерограммы тонкого кишечника человека с помощью дифференциального усилителя с формированием полосы пропускания частот 0,1-5000 Гц и чувствительностью 0,001 – 10 мВ/мм.

Материалы и методы. Регистрация электроэнтеромиограммы проводилась с помощью аппаратно-программного комплекса «Нейрон-Спектр 4» («Нейрософт», Россия). В исследовании участвовали 15 добровольцев. Поверхностные электроды располагали на обезжиренных и покрытых электропроводной пастой участках кожи живота (по В.А. Ступину): 1-й активный электрод – в зоне антродуоденального водителя ритма; 2-й активный электрод – в зоне илеоцекального угла; нейтральный электрод – в левой подвздошной области. Электроды подсоединялись к входам канала для полиграфической регистрации усилителя. Общая продолжительность регистрации до и после проведения функционального теста (употребление пробного завтрака: 200 мл тёплого чая, 4 г сахара, 100 г белого хлеба) составляла 80 минут [2]. Анализировали амплитуду медленных волн (МВ, мкВ) и ча-

стоту ритма в минуту. Статистическую обработку полученных результатов исследований проводили с помощью t-теста по Стьюденту в программе Statistica 6.0.

Результаты исследования. Амплитуда МВ в фоне характеризовалась периодами плавного нарастания и спада и была в среднем $7 \pm 1,6$ мкВ, частота ритма характеризовалась относительным постоянством, находясь в диапазоне 17-18 в минуту. В первые минуты после употребления пробного завтрака амплитуда МВ несколько снижалась ($5 \pm 2,3$ мкВ), что совпадало по времени с т.н. рецептивным расслаблением. Через 15-20 минут после пробного завтрака и в течение оставшихся 20 минут регистрации средняя амплитуда увеличивалась в среднем до 18 ± 3 мкВ ($p < 0,01$), частота медленных волн не изменялась (17-19 в мин).

Сравнение изменения амплитуды медленных волн у лиц с разным типом вегетативной регуляции позволило установить неодинаковую интенсивность реакций на пробный завтрак. Как свидетельствуют результаты статистического анализа, наиболее интенсивная реакция на все функциональные нагрузки была у лиц с незначительной парасимпатотонией. Амплитуда МВ через 15-20 минут после приема пробного завтрака была 22 ± 4 мкВ. У молодых людей с преобладанием симпатического тонуса размах реакций был сопоставим с реакцией у нормотоников (13 ± 2 мкВ и 16 ± 4 мкВ соответственно).

Таким образом, зарегистрированные с помощью дифференциального усилителя, входящего в аппаратно-программный комплекс «Нейрон-Спектр 4», медленноволновые колебания электрической активности имели характерный для тонкого кишечника частотный спектр, а значения амплитуды МВ и характер ее реакций на используемый в клинической практике функциональный тест соответствовали описанным в научной литературе и клинических руководствах.

Литература

1. Вишневский А.А., Лившиц А.В., Вилянский М.И. Электростимуляция желудочно-кишечного тракта. Москва, «Медицина» 1978 г. 183 с.
2. Смирнова Г.О., Силуанов С.В. Периферическая электрогастроэнтерография в клинической практике. – Пособие для врачей. / Под ред. профессора В.А. Ступина – М., 2009 – 20 с.

Саваневская Е.Н., Чумак А.Г.

Отражение вкусовой рецепции растворов NaCl и C₆H₁₂O₆ различных концентраций в электрической активности фронтальных областей коры больших полушарий человека

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
Способность к определению вкуса ключевых нутриентов первостепенно важна для сохранения гомеостаза. На сегодняшний день опи-

саны механизмы молекулярной рецепции веществ, являющихся типовыми вкусовыми раздражителями соленой и сладкой модальностей [1; 2]. Закономерности рецепции вкусовых стимулов на уровне коркового звена сенсорной системы требуют уточнения [3].

Цель – по показателям энцефалографии провести сравнительный анализ степени активации коры больших полушарий, ответственной за вкусовую чувствительность, при предъявлении растворов NaCl и $C_6H_{12}O_6$ в различных концентрациях.

Материалы и методы исследования. Регистрация электроэнцефалограммы (ЭЭГ) у 20 испытуемых осуществлялась с 8 каналов. Электроды накладывались в соответствии с международной схемой 10-20.

Обследуемым предъявлялись водные растворы NaCl в концентрациях 0,48 г/дм³, 0,69 г/дм³, 0,98 г/дм³, 1,4 г/дм³, 2 г/дм³, 4 г/дм³, 9 г/дм³, а также водные растворы глюкозы в концентрациях 10 г/дм³, 50 г/дм³, 100 г/дм³, 200 г/дм³. Контрольным раствором служила питьевая вода. Тестируемый раствор помещался в рот в количестве 10 мл, после чего проводилась 60-секундная регистрация электроэнцефалограммы.

С целью определения активности фронтальной коры мозга для каждого из 25-секундных отрезков записи в отведении Fp1-A1 рассчитывали относительную спектральную мощность в Δ -частотном диапазоне. Множественные сравнения проводились с использованием однофакторного дисперсионного анализа для связанных выборок или критерия Фридмана в случае отклонений от нормальности. Различия признавались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Для определения степени активации фронтальной коры по показателю мощности дельта-частот в спектре ЭЭГ ее паттерны, полученные при предъявлении растворов соли или глюкозы в каждой из концентраций, сравнивались с контролем. В случае с растворами соли наблюдалось возрастание относительной мощности в дельта-диапазоне с ростом концентрации NaCl. Самым низким эффектом обладала контрольная концентрация. Достоверные отличия экспериментальных значений от контрольных наблюдались, начиная с раствора, содержащего 4 г/дм³ NaCl.

Для растворов глюкозы, напротив, характерно достоверное падение активности в дельта-диапазоне частот относительно уровня фона при предъявлении 10 г/дм³ глюкозы. При предъявлении растворов концентрацией 50 г/дм³, 100 г/дм³, 200 г/дм³ относительные значения показателя возросли, однако ни на одном из этапов превышения контрольных значений не наблюдалось. При предъявлении 50 г/дм³ глюкозы значение дельта-мощности спектра ЭЭГ было наибольшим.

Выводы. Таким образом, достоверный эффект, указывающий на корковое возбуждение вкусовой сенсорной системы, характеризуется активацией фронтальной коры мозга с превышением мощности дельта-диапазона электроэнцефалограммы над исходным уровнем при аппликации растворов NaCl и C₆H₁₂O₆, но с меньшими значениями при рецепции сладкого. Это может свидетельствовать о различии в уровне активации островковой зоны и фронтально-орбитальной коры больших полушарий при сенсорной рецепции данных веществ.

Литература

1. Laffitte, A. Functional roles of the sweet taste receptor in oral and extraoral tissues / A. Laffitte, F. Neiers, L. Briand // Curr Opin Clin Nutr Metab Care. – 2014. – Vol. 17, № 4. – P. 379–385.
2. Roper, S. D. The taste of table salt / S. D. Roper // Pflugers Arch. – 2015. – Vol. 467, № 3. – P. 457–463.
3. Lowe, C. J. The neurocognitive mechanisms underlying food cravings and snack food consumption. A combined continuous theta burst stimulation (cTBS) and EEG study / C. J. Lowe [et al.] // Neuroimage. – 2018. – № 177. – P. 45–58.

Садыков Р.А., Исмаилов Б.А.

Новое полимерное покрытие для достижения аэро- и гемостаза из производных целлюлозы

ГУ «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии имени академика В. Вахидова»,
г. Ташкент, Узбекистан

На сегодняшний день нерешёнными проблемами торакальной хирургии остаются: проблема эффективного и стойкого аэростаза из поврежденной ткани лёгкого, гемостаза при операциях на органах средостения, что обуславливает риск развития осложнений вовремя и после операции. Освоение новых биосовместимых материалов и создание специализированных биомедицинских изделий из них становится лидирующим направлением исследований и производства в настоящее время. Используемые в клинической практике гемостатические пленки и субстанции имеют ограниченное применение вследствие недостаточной эффективности, односторонности воздействия. В этой связи эффективный и надежный аэрозаст при повреждении ткани легкого – остается актуальной и нерешенной проблемой в хирургии легких.

Цель. Изучить физико-механические и биологические свойства нового полимерного покрытия из производных целлюлозы в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Нами разработан новый композиционный полимер из производных целлюлозы (КПЦ), обладающий гемо- и аэрозастическим свойством (Патент №IAP 20180105 Способ формирования для гемостаза и аэростаза раны легкого в эксперименте). В состав КПЦ входит: Na-Ca-КМЦ, хлопковая окисленная целлюлоза. КПЦ

представляет собой полупрозрачную гибкую пленку произвольной площади, толщиной до 150 мкм, умеренно растворимую в воде. Определяли силу адгезии, механическую прочность и гемостатическую активность.

Для определения механических свойств пленок (прочность на разрыв (F_{max}) и относительное удлинение (ϵ)) измеряли с помощью разрывной машины Zwick/RoellZ 0.5 при комнатной температуре и 35 % относительной влажности. Тестирование проводили при следующих настройках прибора: расстояние между захватами – 20 мм; преднагрузка на образец – 1 Н; скорость преднагрузки – 10 мм/мин; скорость испытания – 40 мм/мин. Для определения адгезии использовали равноплечные весы, на одном конце коромысла, которых была подвешена чашечка для гирь, а на другом – уравновешенная с ней стеклянная пластинка размером 5x10 см. Исследуемые образцы в виде дисков помещали на стеклянную поверхность с предварительно нанесенной с помощью микропипетки капель воды. Диск накрывали прикрепленной к коромыслу весов стеклянной пластинкой, прижимали ее стандартным грузом массой в 100,0 г в течение 10 сек. В чашечку весов помещали постепенно увеличивающийся груз до отклеивания стеклянной пластинки от пленки. Исследование времени свертывания крови (ВСК) проводилось методом Ли-Уайта. В пробирку с 1 мл цельной венозной крови помещали КПП размером 1 см² в и толщиной 100 мкм. Инкубировали в водяной бане в течение 2 минут при t-37°. Фиксировали время появления сгустка.

Результаты. Адгезия гемостатического имплантата к раневой поверхности обеспечивает механическое закрытие раны легкого, что значительно повышает эффективность поступление воздуха и остановки кровотечения. Адгезивность пленки из КПП составила 14,5±0,8 КПа ($M \pm m$). Столь высокая адгезия имплантата обусловлена его гибкостью и умеренной гидрофильностью.

Исследование прочности на разрыв позволяет оценить способность имплантата удерживать края раневой поверхности при механическом воздействии. Предел разрывной силы пленочного покрытия из КПП составил 390±4,81 кГс/см² ($M \pm m$).

В присутствии КПП время свертывания крови по Ли-Уайту существенно ускорялось и составило 2,42 ± 0,64 мин (в норме 7,52 ± 1,46 мин, $p < 0,001$).

Заключение. В результате научных исследований разработано новое покрытие из композиционного полимерного материала из производных целлюлозы. Биологическое покрытие обладает высокой гемоста-

тической активностью, физическими и механическими параметрами, которое можно применить в хирургии легких для аэро- и гемостаза.

*Свиридов О.В.¹, Дубовская Л.В.¹, Яковлев-Малых Н.Н.²,
Камышников В.С.²*

Создание реагентной базы определения плазматического ассоциированного с беременностью белка А сыворотки крови мужчин и небеременных женщин для высокочувствительной модельной иммунофлуориметрической тест-системы «ЛИФМА-ПАББ-А»

¹ ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

² ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

В ходе выполнения задания БРФФИ «Разработка инновационных технологий лабораторного исследования предикторов осложненного течения ИБС на основе оценки характера сопряжения процессов антиокислительной защиты, протео- и фосфолипидизации» осуществлены исследования по подбору реагентов и оптимизации их содержания в аналитическом буферном растворе для проведения иммунохимической реакции связывания плазматического ассоциированного с беременностью белка А (ПАББ-А) донорской сыворотки и калибровочных проб как с биотинилированным моноклональным антителом (Бт-Мат), иммобилизованным на поверхности лунок планшета через адсорбированный биотинсвязывающий белок авидин, так и с находящимся в растворе моноклональных антител (Мат), в структуру которого включен хелат иона Eu^{3+} . В результате данной реакции происходит образование тройного комплекса Бт-Мат...ПАББ-А... Eu^{3+} -Мат.

С учетом того, что одной из причин получения ложноположительных результатов может быть перекрестная реакция с находящимися в сыворотке крови отдельных людей гетерофильными антителами, в аналитический буферный раствор внесены блокирующие их соединения. Это позволило повысить диагностическую надежность исследования при тестировании образцов сывороток крови пациентов с ишемической болезнью сердца.

Непрореагировавшие компоненты удаляются промывочным буферным раствором, в состав которого входят неорганические соли, определяющие ионную силу и pH раствора, детергенты и бактериостатики. Эффективность промывания оценивалась по устранению неспецифической сорбции Eu^{3+} в лунках с раствором, не содержащим ПАББ-А:

интенсивность свечения при этом не должна превышать 1000 отн. ед. флуоресценции (измерение с задержкой во времени).

Оптимизация состава раствора для промывания лунок и раствора для разведения конъюгата Eu^{3+} -Мат позволила минимизировать неспецифическую абсорбцию: уровень флуоресценции Eu^{3+} в лунке с калибратом без ПАББ-А не превышает 1000 отн.ед. Такие характеристики буфера обеспечили эффективное проведение аналитической реакции определения ПАББ-А с использованием иммунофлуориметрической тест-системы.

Сравнение результатов, полученных при использовании разрабатываемой модельной тест-системы и сертифицированного электрохемилюминесцентного набора реагентов «РАРР-А» фирмы «Roche» не выявило образцов со значительным превышением содержания аналита, определенным с использованием системы «ЛИФМА-ПАББ-А».

Сикор А.Н.

Сравнительная оценка эффективности современных дезинфицирующих препаратов

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы», г. Гродно, Беларусь

В условиях интенсивного внедрения и использования современных медицинских технологий перед медицинскими организациями стоит сложная задача оптимального выбора химических средств дезинфекции и стерилизации среди огромного разнообразия предлагаемой продукции. Уровень дезинфекции зависит от цели, которую пользователь преследует при проведении данной процедуры, а также предполагаемого объекта использования. Для того чтобы обеспечить очистку оборудования, должный уход за поверхностями, а также дезинфекцию помещений, необходимы дезинфицирующие средства, которые имеют широкий спектр антимикробного действия и низкую токсичность для медицинского персонала.

Цель данного исследования – сравнение эффективности антимикробного действия параформальдегида марки «С» и комбинированного препарата «Микроцида-Д» в отношении бактериальной и грибной микрофлоры.

Дезинфицирующий препарат параформальдегид марки «С» представляет собой продукт поликонденсации формальдегида, который рекомендуется использовать в качестве дезинфицирующего вещества для обработки животноводческих комплексов, средств транспорта и медицинских объектов. Параформальдегид принадлежит к группе быстродействующих клеточных ядов и относится к веществам 2 класса

опасности. Препарат дезинфицирующий «Микроцид-Д» содержит глиоксаль 6%, и алкилдиметилбензиламмоний 5% в качестве действующих веществ и предназначен для дезинфекции птицеводческих и животноводческих помещений, санитарно-технического оборудования, посуды, предметов ухода за животными; дезинфекции поверхностей в организациях здравоохранения. Препарат «Микроцид-Д» по параметрам острой токсичности относится к 3 классу умеренно опасных веществ при введении в желудок мышам, к 4 классу малоопасных веществ при нанесении на кожу и при ингаляционном воздействии паров действующих веществ в насыщающих концентрациях.

Для оценки эффективности действия этих препаратов применяли суспензионный метод и метод батистовых тест-объектов, таких как бактерии *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Bacillus subtilis*; *Pseudomonas aeruginosa* и грибы *Candida albicans*; *Aspergillus niger*.

Исследование 1 %-ной концентрации параформальдегида марки «С» при 15, 30, 60 и 90-минутных экспозициях показало, что бактерицидный эффект параформальдегида отмечался в отношении *E. coli* при экспозиции 60 мин, *St. aureus* и *Ps. aeruginosa* – 90 мин. Спороцидный эффект в отношении *B. subtilis* достигался при экспозиции в 90 мин. Грибы *C. albicans* погибали при воздействии идентичной концентрации при экспозиции 60 мин, а *A. niger* – 90 мин.

Бактерицидный эффект 1%-ного рабочего раствора препарата «Микроцид-Д» проявлялся в отношении *E. coli*, *St. aureus* и *Ps. aeruginosa* уже при экспозиции в 15 мин. Спороцидный эффект данного конбинированного препарата в отношении *B. subtilis* и фунгицидный эффект в отношении *A. niger* и *C. albicans* также были отмечены при экспозиции в 15 мин, в то время как, по инструкции, его рекомендуют выдерживать один час.

Таким образом, изучаемые препараты параформальдегид марки «С» и «Микроцид-Д» имеют широкие спектры антимикробного действия в отношении бактерий и грибов различных форм и видов. Параформальдегид, в отличие от препарата «Микроцид-Д» проявляет антимикробные свойства только при длительном воздействии (более чем 60 мин) и обладает большей токсичностью для человека и животных.

Однако, для эффективной реализации мероприятий по санитарно-эпидемиологической защите населения необходима оценка не только спектра антимикробной активности и времени процесса обеззараживания антимикробного химического средства, но также сведения о способности микроорганизмов вырабатывать резистентность к данному средству.

**Роль уропатогенных микоплазм в процессах образования
мочевых камней**

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного
образования», г. Минск, Беларусь

Общая заболеваемость населения Республики Беларусь мочекаменной болезнью (МКБ) за последние 15 лет (2004–2018 гг.) увеличилась на 58%, а первичная – на 79%, тогда как темпы прироста общей заболеваемости населения по всем нозологическим формам за этот период составили всего 22,4%, а первичной – 14,8%. Значение МКБ для здравоохранения определяется преимущественным поражением людей трудоспособного возраста с выраженной тенденцией к рецидивированию камнеобразования (в 50-70% случаев). Развитие МКБ обычно связывают с врожденной предрасположенностью к нарушениям обмена веществ, приводящим к образованию нерастворимых солей, из которых в впоследствии формируются камни, и/или воспалением почек и мочеиспускательной системы. Отдельным фактором риска камнеобразования является скрытая урогенитальная инфекция, передающаяся, как правило, половым путем.

До настоящего времени экспериментальные данные о физиологических и патофизиологических процессах, протекающих в эпителиальных клетках нефрона, в условиях воздействия на них условно-патогенной микрофлоры мочеполового системы недостаточны и ограничены.

Цель исследования – изучить химический состав камней при МКБ в присутствии ДНК, наиболее часто встречающихся в мочеполовой системе человека 3 видов Mollicutes: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*.

Материал и методы. Работа проведена на базе Научно-исследовательской лаборатории ГУО «БелМАПО». В исследование были включены 42 мужчины в возрасте $40,2 \pm 3,1$ года с диагнозом «мочекаменная болезнь». Образцы мочевых камней получены из мочи или во время оперативного вмешательства. Полученные камни были разными по цвету и плотности: от серовато-белого цвета, шероховатых, относительно мягких до желто-коричневых и бурого цвета, гладких и плотных. Химический состав мочевых камней исследовали методами микроскопии, микрокристаллоскопии, пробы с азотной кислотой, обнаружением мочевой кислоты, цистина, фосфатов, оксалатов, карбонатов. Выделение ДНК микроорганизмов из образцов мочевых камней осуществляли с использованием набора реагентов для выделе-

ния ДНК «РеалБест – экстракция 1» («ВекторБест», РФ). Детекцию ДНК *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* в этих образцах проводили ПЦР в режиме реального времени с использованием тест-систем «РеалБест ДНК *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*» («ВекторБест», РФ).

Результаты и их обсуждение. При проведении качественного анализа химического состава мочевых камней установлено наличие уратов натрия и кальция в $52,38 \pm 6,01\%$ ($n=22$) образцах, а мочевой кислоты – в $47,62 \pm 3,94\%$ ($n=20$) образцах мочевых камней. ДНК *Ureaplasma urealyticum* выявлена в образцах камней 18 пациентов ($42,86 \pm 4,01\%$), ДНК *Mycoplasma hominis* идентифицировав у 11 пациентов ($26,19 \pm 2,33\%$), ДНК *Mycoplasma genitalium* – у 9 пациентов ($21,43 \pm 1,94\%$). В 2 образцах мочевых камней ($4,76 \pm 0,54\%$) были выявлены ассоциации ДНК *Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum*. 13 образцов мочевых камней были отрицательными в отношении указанных возбудителей. Проведенный статистический анализ с использованием критерия независимости χ^2 не выявил наличия взаимосвязи между онтогенетическим типом уrolита и обнаруженным видом микоплазм.

Закключение. Химическая природа мочевых камней и кристаллов при МКБ не может быть полностью оценена с помощью методов качественного анализа и микроскопии. Для решения вопроса об их происхождении необходимо проведение клинического анализа мочи пациентов.

Онтогенетические типы уrolитов (камни мочевой кислоты, ураты натрия и кальция) могут содержать ДНК *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* и *Ureaplasma urealyticum*, что свидетельствует об этиологическом значении этих представителей аутохтонной уропатогенной микрофлоры в образовании камней и развитии МКБ у человека.

Somova E.V.¹, Tynynyka L.N.², Nikolchenko A.Yu.¹, Musatova I.B.¹

The effect of ozonized solutions on regenerative processes in the skin after its cryoinjury

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences, Kharkov, Ukraine

²Karazin Kharkiv National University School of medicine, Kharkov, Ukraine

Ozone, that is an allotropic modification of oxygen, has the properties of a powerful oxidizing agent for chemicals. The interaction of ozone with the body is manifested at all levels: molecular, cellular, tissue, organ, system. So that, the effect of ozone at the cellular level can be assessed as an adap-

togenic, regenerated cell redox potential and self-regulation. Ozone is a factor that qualitatively changes cell metabolism and microcirculation due to the expansion of the structural-enzymatic spectrum of oxygen utilization and the increase in the energy efficiency of tissue oxidative systems. The injection of ozone into the body in certain concentrations is accompanied by a wide range of biological influence on various organs and systems: the central nervous system, endocrine, cardiovascular, excretory, respiratory, hematopoietic, immune and reproductive. Ozone can be considered both a pharmacological drug and ecologically pure physical-chemical factor that has bactericidal and antiviral properties. In the economic aspect, the cost of ozone therapy course is lower on several exponents in comparison with use of reserve-series antibiotics and a new generation with an extremely expensive one. Reducing of tissue hypoxia is one of the mechanisms of anti-inflammatory action of ozone therapy. The stimulation of reparative processes in the primary purulent wounds during treatment has been noted in many studies according to use of ozone in purulent surgery. In connection with the above, the purpose of our investigation is to study the reparative processes in the skin after cryoinjuring and the influence on them of various concentrations of ozonized solutions.

The work was performed on 80 white rats male Wistar according to agreement of the International Principles of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 1986). A copper applicator which was cooled till liquid nitrogen temperature (-196°C) was used to simulate cold wounds. All experimental animals were daily subcutaneously injected with ozonized physiological solution (OPS) with ozone concentrations of 12 mg/l; 6 mg/l; 1 mg/l. The dynamics of wound healing after cold skin damage and the effect of various ozone concentrations on regenerative processes were studied on the 1st, 3rd, 7th and 14th day.

OPS was obtained at a facility with a barrier-free ozone generator which had been designed in Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine (Ukraine, Kharkov). A physiological solution (0.89% NaCl; pH 7.2) was bubbled with an ozone-oxygen mixture, and then the concentration of ozone was estimated spectrophotometrically on a Specord UV VIS device (Germany) by absorbing light on the Hartley strip.

A semi-quantitative assessment of the histological characteristics of severity that reflects the state of inflammatory necrotic and regenerative processes in the skin has been carried out for a morphological study of development and regression of pathological disorders caused by cryoinjuring. The analysis of histological sections has been carried out under a Carl Zeiss (Jena) microscope; a Canon digital camera EOS 300D Digital was used for photo registration.

According to the data obtained, it has been shown that the treatment of cryodamages with OPS improves the regenerative processes in the skin. The regenerative properties are increased with a decrease of the ozone concentration in the OPS. The best healing results were obtained in the group of animals that were treated with ozone concentration in 1 mg/l OPS.

Сперанская Е. Ч.

Железодефицитная анемия новые способы диагностики
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Развитие химии, внедрение ее достижений в повседневную жизнь людей, применение новых искусственных материалов, удобрений, лекарственных средств значительно расширяет возможности человека, но одновременно и увеличивает вероятность бытовых отравлений, приводит к нарушению основных функциональных систем организма. При этом одной из наиболее уязвимых систем является система транспорта кислорода кровью.

Молекулярной основой нарушения кислородной функции крови служит образование так называемых "валентных гибридов" (частично окисленных молекул гемоглобина), которые не способны эффективно переносить кислород и могут приводить к развитию функциональной "скрытой" анемии (метгемоглобинемии). Для поддержания гемоглобина в физиологически активном состоянии в эритроцитах млекопитающих функционирует мощная восстанавливающая ферментативная система – NADH - метгемоглобинредуктаза (цитоплазматическая NADH: цитохром В₅ оксидоредуктаза). При прогнозировании устойчивости организма человека к кислородной недостаточности необходимо определение активности этого фермента. С помощью разработанного нами метода было проведено сравнительное исследование метгемоглобинредуктазной активности в эритроцитах доноров и гематологических больных [1]. Нами были исследованы образцы крови 34 пациентов. Результаты исследования показали, что у здоровых доноров (20 человек) активность фермента NADH-метгемоглобинредуктазы составляла $2,72 \pm 0,005$ мкГ/мин гНб. У больных железодефицитной анемией (8 пациентов) активность этого фермента составляла $5,99 \pm 0,59$ мкГ/мин гНб. При этом активность NADH-метгемоглобинредуктазы у больных различными формами лейкоза (4 пациента) составляла $2,33 \pm 0,33$ мкГ/мин гНб. (Достоверные изменения при $P < 0,001$)

У гематологических больных наблюдаются значительные вариации активности фермента. Так, в частности, отмечена тенденция к повы-

шению активности у больных железодефицитной анемией (ЖДА). Полученные данные указывают на то, что ЖДА формирует неэффективный эритропоэз, который является своеобразным физиологическим механизмом защиты клеток и тканей при анемиях, что отражается на активности метгемоглобинредуктазы [2].

Литература

1. Сперанская Е.Ч. А.С.1778689 СССР, G01N33/52. Способ определения активности NADH - метгемоглобинредуктазы. БЮЛ. №38// Открытия. Изобретения. -1992.-№38.-С.67.
2. Маленченко А.Ф., Смирнова Л.А., Каркоцкая Т.П., Сперанская Е.Ч. Сборник научных трудов НИИ санитории и гигиены под ред. д.м.н. Соколова С.М. - Минск,2002, т.1,-С.564-567.

Сперанская Е.Ч., Маслова Г.Т., Полохович Г.С.

Изучение механизмов антиокислительного действия каротиноидов *in vivo* и *in vitro*

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

β -Каротин - эффективное средство для профилактики заболеваний, связанных с активацией свободнорадикального окисления. В связи с этим нам представлялось целесообразным провести анализ его влияния на интенсивность свободнорадикальных процессов в крови и тканях.

В настоящем сообщении представлены данные о влиянии β -каротина (в составе каротиноидной пасты) на перекисное окисление липидов в условиях *in vivo* и *in vitro*. В качестве модели ПОЛ *in vivo* нами было выбрано острое отравление крыс четыреххлористым углеродом (25 мкл/100 г массы тела). Каротиноидная паста (доза β -каротина 20 мг/кг) вводилась внутри желудочно дважды: за сутки и 3 часа до введения CCl_4 . Контрольным животным вводили растворитель-вазелиновое масло, либо каротиноидную пасту. Через 2 часа после введения CCl_4 в гомогенатах перфузированной раствором 0,9% NaCl печени определяли содержание первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) [1], активность глутатионзависимых ферментов: глутатионредуктазы (КФ 1.6.4.2), глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9), а также уровень восстановленного глутатиона [2]. В модельных системах *in vitro* исследовали антиокислительную активность каротиноидной пасты и чистого β -каротина методом индуцированной хемилюминесценции [3].

Полученные результаты показали, что Предварительное введение каротиноидной пасты снижало образование диеновых конъюгатов в гомогенатах печени до $63,6 \pm 10,6$ нмоль/г ткани (процент ингибирования 60%), а также способствовало сохранению уровня восстановлен-

ного глутатиона в условиях CCl_4 отравления, что характерно и для других антиоксидантов [4].

Антиоксидантный эффект каротиноидной пасты и чистого каротина подтвержден нами в исследованиях *in vitro*. Для этого исследовали их влияние на хемилюминесценцию сопровождающую свободнорадикальное каталитическое разложение перекиси водорода геминном. Для сравнения использовали известные антиоксиданты – ионол, рутин, аскорбиновую кислоту. Об антиокислительной активности судили по показателю IC_{50} , соответствующему концентрации вещества, способной снижать светосумму хемилюминесценции в 2 раза. Сравнительный анализ показал, что IC_{50} для ионола составляет $2 \cdot 10^{-7}$ М, аскорбиновой кислоты – $2,4 \cdot 10^{-7}$ М, рутина – $3,0 \cdot 10^{-7}$ М, для каротиноидной пасты $4,0 \cdot 10^{-6}$ М (в пересчете на чистый β -каротин) и самого β -каротина $3,8 \cdot 10^{-6}$ М, т.е. антиокислительная активность β -каротина соизмерима с активностью широко применяемых антиоксидантов.

Таким образом, полученные данные выявили защитное действие каротиноидной пасты при активации свободнорадикального окисления, что свидетельствует о перспективности применения каротиноидов при “окислительном стрессе”, вызванном радикалинизирующими факторами окружающей среды.

Литература

1. Костюк В.А., Потапович А.И., Лунец Е.Ф. // *Вопр.мед.химии.*- 1984.- Т.30, вып.4.- С.125-127.
2. Маслова Г.Т., Боборико Т.Л. // *Укр.биохим.журн.*- 1990.- Т.62, вып.6.-С.101-105.
3. А.с. 1778689 СССР, МКИ³ G 01 N 33/15. Способ определения антиоксидантной активности лекарственных веществ / С.Д. Сперанский, Н.Ф.Сорока, Е.Ч.Сперанская (СССР).- №4857967/14; Заявлено 08.08.90; Оpubл. 30.11.92, Бюл. №44 // *Открытия. Изобретения.*- 1992.- №44.- С.14.
4. Скакун Н.П., Ковальчук С.Ф. // *Фармакол. Токсикология.*- 1987.- Т.50, вып.3. – С.97-99.

Степура И.И.¹, Лабор С.¹, Степура В.И.², Травкина М.³, Янцевич А.В.³

Тиамин ингибирует образование пероксидов триптофана и пероксидов триптофанильных остатков белков, вызванных действием ультрафиолета на триптофан и белки

¹ГП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», г. Гродно, Беларусь

²УО «Гродненский государственный университет
имени Янки Купалы», г. Гродно, Беларусь

³ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», г. Минск,
Беларусь

Ионизирующее и ультрафиолетовое излучение вызывает повреждение и гибель клеток вследствие как прямого воздействия на структуру

ДНК и белков, так и вследствие генерации активных форм кислорода и активных карбонильных соединений, оказывающих повреждающее действие. Индольное кольцо триптофана обладает наиболее высоким поглощением в ближнем УФ диапазоне среди аминокислотных остатков, входящих в состав белков. Полоса поглощения триптофанила находится в более длинноволновом диапазоне, чем для любого другого из аминокислотных остатков. Первое триплетное состояние триптофана (^3Trp) способно вступать в реакции переноса электрона с подходящими акцепторами электрона, что приводит в реакциях с дисульфидами (RSSR^-) к образованию катион-радикала триптофана ($\text{Trp}^{\bullet+}$) и анион-радикалов (RSSR^-). Образующийся катион-радикал триптофана быстро депротонируется с образованием нейтрального радикала $\text{Trp}^\bullet$. Последующие реакции нейтрального индольного радикала $\text{Trp}^\bullet$ с кислородом дают кольцевой С-3 пероксильный радикал, который может участвовать в реакции отрыва атома водорода.

Целью работы является установление механизмов окислительной трансформации и деструкции тиамин и его фосфорных эфиров под действием синглетного кислорода, а также под действием триптофанильных радикалов, пероксидов триптофана, возникающих при воздействии ультрафиолета на свободный триптофан и триптофан-содержащие белки.

Материалы и методы. Растворенный в воде кислород удаляли с помощью сульфита натрия. Концентрацию растворенного кислорода определяли с помощью электрода Кларка (Hansatech Instruments Ltd). Масс-спектры тиамин и его производных зарегистрированы с использованием квадрупольно-времетраjectory тандемного масс-спектрометрического детектора Q-TOF 6550 в режиме ионизации электрораспылением (ESI^+). Измерения концентрации тioxрома и оксодигидротioxрома проводили на спектрофлуориметре CM2203 (Солар, РБ). Флуоресцентные свойства производных тиамин изучали методами стационарной и разрешенной во времени флуоресценции.

Результаты и обсуждение. При облучении водных растворов триптофана в присутствии тиамин выход кинуренина снижается, а выход тioxрома возрастает. Тиамин и кислород конкурируют за триптофанильные радикалы. Полученные выводы подтверждены результатами фотохимических измерений в присутствии сульфита натрия. Показано, что триптофанильные радикалы, которые образуются в фотохимической реакции, реагируют с кислородом. Уменьшение концентрации кислорода сопровождалось увеличением выхода тioxрома и уменьшением выхода тiazолон тиамин. Полученные результаты свидетельствуют, что образовавшиеся триптофанильные радикалы окисляют

тиамин в тиохром. В присутствии кислорода триптофанильные радикалы образуют пероксиды триптофана. Тиамин в циклической форме не окисляется в тиохром под действием пероксидов триптофана. Тиольная форма тиамин окисляется с образованием дисульфида тиамин и тиазолон тиамин как триптофанильными радикалами, так и их гидропероксидами в позиции С3 индольного кольца. Тиохром стабилен к действию триптофанильных радикалов и не испытывает дальнейших превращений. В присутствии триптофана выход продуктов окисления тиамин возрастает вследствие дополнительной генерации синглетного кислорода триплетными уровнями молекулы триптофана. В нейтральной среде в присутствии азид, который является тушителем синглетного кислорода, происходит резкое замедление образования продуктов окисления тиазолового компонента тиамин таких, например, как тиазолон тиамин. Поэтому можно предположить, что в процессе фотодеструкции тиамин важную роль, вероятно, играет синглетный кислород.

Заключение. Обсуждается антиоксидантное действие высоких концентраций тиамин и его фосфорных эфиров при окислительном стрессе, воздействии ультрафиолета или ионизирующего излучения на организм и возможная роль тиамин и производных тиамин как перспективного класса антикатактальных препаратов. Работа выполнена при поддержке БРФФИ, грант № М18-157 и задания ГПНИ 5-28.

Султанова Г.Г.

О механизмах изменения активности АХЭ-азы эритроцитов некоторыми пестицидами

Институт ботаники Национальной академии наук Азербайджана,
г. Баку, Азербайджан

Изучены кинетика и механизмы влияния некоторых пестицидов: ПХНБ, ТХУ, рогор, ПХФNa, хлорофос, гептахлор на АХЭ-азную активность и механическую резистентность эритроцитов к ультразвуку. Обнаружена различная степень повреждающей способности рассмотренных в работе препаратов. Данные по нарушению структурно-функциональных свойств эритроцитов коррелируют с результатами токсического действия этих препаратов на различных биологических объектах. Полученные данные могут быть использованы для избирательного поиска препаратов, обладающих наименьшей токсичностью.

Пестициды – химические соединения, используемые в народном хозяйстве для борьбы с вредными организмами. Несмотря на достоинства химического метода защиты растений имеют место и его недостатки, а именно накопление пестицидов в окружающей среде; воз-

никновение устойчивых популяций вредителей, появление новых видов вредных организмов, потенциальная угроза полезным обитателям биосферы и здоровью человека. В связи с развитием техногенных факторов население крупных городов испытывает сильное воздействие тяжелых металлов (свинец, хром, медь, кадмий, а также ароматические углеводороды и пестициды).

Известно, что пестициды способны влиять на структуру и биологическую активность клеток крови. АХЭ-аза является наружным ферментом, расположенным на поверхности мембраны эритроцитов, клеток мозга, нервной ткани и др. и ответственна за передачу нервного импульса в результате гидролиза ацетилхолина. Активность АХЭазы в крови и ее компонентах может служить дополнительным диагностическим критерием анализа некоторых патологических состояний вызываемых токсическими соединениями. Изучение повреждающих воздействий на основе кинетических констант ферментативной реакции без и в присутствии исследуемых препаратов может быть информативным для анализа механизмов их воздействия на холинэстеразные свойства красных кровяных клеток. Применение ультразвука, который широко используется для направленного и избирательного воздействия на клетки, могло бы дать информацию о механической устойчивости красных кровяных клеток на основе использования его гемолитического эффекта. Поскольку известно, что такие физиологически-активные вещества (ФАВ), как пестициды, обладают повреждающим действием на клеточные мембраны, представлялось возможным изучить закономерности эффектов хлорсодержащих пестицидов с использованием модельной системы-суспензии эритроцитов. Изучение ультразвуковой гемолитической резистентности эритроцитов актуально, так как пестициды широко используются в хозяйственной деятельности и по изменению механической стойкости эритроцитов, обработанных пестицидами, возможно характеризовать количественные закономерности их повреждающего действия. Ультразвуковая энергия также эффективно используется в медицинских целях и микробиологической промышленности. Обнаруженная инактивация наружного фермента АХЭ-азы свидетельствует о том, что ингибирующее действие хлорсодержащих пестицидов обусловлено повреждением эритроцитарных мембран, содержащих АХЭ-аза. Установлено, что ПХФ-На, хлорофос и рогор обладают собственной гемолитической активностью в изотонической среде, а обработка эритроцитов ТХУ и ПХНБ не приводит к их гемолизу. Изученная методика изучения количественных характеристик гемолиза эритроцитов при воздействии пе-

стицидов позволяет в каждом случае установить наименьшую концентрацию препарата, обладающую гемолитической активностью. В основе этих изменений могут лежать либо взаимодействия изученных пестицидов с эритроцитами путем их распределения на поверхностных гидрофобных участках мембран, где расположена инактивируемая пестицидом АХЭ-аза, либо их внедрением в липопротеидную структуру эритроцитарной мембраны. Таким образом, изученные хлоросодержащие пестициды понижают функциональную (АХЭ-азную) активность эритроцитов и изменяют их механическую гемолитическую резистентность, что позволяет использовать количественные параметры, характеризующие ультразвуковой гемолиз эритроцитов ($t_{гем}$, $V_{гем}$), в качестве критериев для оценки мембранотропного действия пестицидов. Можно полагать, что по выявленным нарушениям в мембранах эритроцитов возможно судить о реакции на препараты других биологических клеток.

*Сутько И.П., Шляхтун А.Г., Титко О.В., Янкевич Н.В., Телегин П.Г.,
Колодко А.В., Зверинский И.В.*

Гепатопротекторное действие самоэмульгирующейся системы с берберинном при экспериментальном повреждении печени крыс ацетаминифеном

ГП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», г. Гродно, Беларусь

Берберин известен своим желчегонным, гиполипидемическим и гипогликемическим действием. Показан его гепатопротекторный потенциал при поражениях печени различного генеза. Однако, несмотря на широкий спектр биологической активности и низкую токсичность берберина, его применение ограничивается низкой биодоступностью (менее 1%) при пероральном применении. Среди методов и технологических приемов, применяемых в настоящее время для повышения растворимости и, следовательно, улучшения биодоступности лекарственных веществ (ЛВ), особое место занимают специализированные формы доставки, которые защищают ЛВ от метаболизма в желудке и увеличивают его растворимость. К таковым относятся и самоэмульгирующиеся системы (СЭС), которые при попадании в желудочно-кишечную среду вследствие смешивания с водной фазой образуют эмульсии «масло-в-воде».

Целью нашей работы стала разработка СЭС с берберинном и изучение ее гепатопротекторного действия при повреждении печени ацетаминифеном у крыс.

Материалы и методы исследования. Для разработки СЭС с берберином проводили скрининг ее потенциальных компонентов, выбирали комбинации компонентов СЭС с наименьшим количеством ПАВ, при котором происходило самоэмульгирование. Полученная СЭС для берберина представляла собой смесь олеиновой кислоты, твин-80, полиэтиленгликоль-400 и берберина. Разработанную СЭС с берберином в дальнейшем использовали для сравнительного анализа гепатопротекторного действия берберина в составе СЭС и в свободном виде при повреждении печени ацетаминофеном в эксперименте. Исследование проведено на взрослых крысах-самцах линии Wistar с исходной массой 210–230 г. Эксперимент выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с животными. Животным экспериментальных групп один раз в день на протяжении 7 суток вводили внутривенно (в/в) 0,5% крахмальный клейстер, либо берберин (80 мг/кг) в виде суспензии на 0,5% крахмальном клейстере, либо берберин (80 мг/кг) в составе разработанной СЭС, животным контрольной группы – 0,5% крахмальный клейстер. На 7-ые сутки через 30 минут после последнего введения препаратов крысам однократно в/в вводили ацетаминофен (2 мг/кг). Через 24 часа после интоксикации животных эвтазировали, брали образцы печени, собирали кровь и получали сыворотку, готовили гомогенаты печени. Полученные данные подвергали статистической обработке методом однофакторного дисперсионного анализа. Различия признавали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Только берберин в составе разработанной СЭС предупреждал развитие цитолиза (активности аланин- и аспаратаминотрансфераз не отличались от контрольных значений и были ниже таковых у животных без лечения соответственно на 58% и 51%), повышение уровня триглицеридов в сыворотке крови крыс (их уровень на 45% был ниже относительно такового у животных, не получавших препарат). При применении берберина в составе СЭС в меньшей степени снижался уровень свободных SH-групп (при этом он в 2,4 раза превышал таковой у животных без лечения), активность тиоредоксинредуктазы; поддерживались на контрольном уровне активности НАДФ-генерирующих ферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы в печени крыс. Более эффективное действие берберина в составе СЭС подтверждало и более значимое улучшение морфологической картины печени: ткань печени была нормального строения с отдельными редко встречающимися некрозами и единичными участками с лимфогистиоцитарной инфильтрацией.

Заключение. Таким образом, полученные результаты исследования подтверждают более выраженное гепатозащитное действие берберина

в составе разработанной СЭС в сравнении с его действием в свободном виде при повреждении печени ацетаминофеном у крыс, что, вероятно, обусловлено увеличением его биодоступности.

*Сутько И.П., Шляхтун А.Г., Титко О.В., Янкевич Н.В., Телегин П.Г.,
Колодко А.В., Зверинский И.В.*

Оценка эффективности применения самоэмульгирующихся систем с силимарином и берберином в эксперименте

ГП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», г. Гродно, Беларусь

Самоэмульгирующиеся системы (СЭС) являются специализированными формами доставки лекарственных веществ (ЛВ), которые защищают ЛВ от метаболизма в желудке, увеличивают их растворимость в водной фазе желудочно-кишечного тракта и тем самым повышают биологическую доступность ЛВ.

Учитывая низкую биодоступность силимарина и берберина при пероральном применении, **целью** нашей работы стала разработка СЭС с берберином и силимарином и оценка эффективности их применения при экспериментальном токсическом гепатите у крыс.

Материалы и методы исследования. Свойства ЛВ во многом определили выбор компонентов СЭС и типа СЭС. При этом учитывали их токсичность, опыт использования, растворяющую способность, смешиваемость, самодиспергируемость. Выбирали комбинации компонентов СЭС с наименьшим количеством поверхностно-активного вещества (ПАВ), при котором происходило самоэмульгирование. Полученные СЭС для силимарина и берберина содержали соответственно масло расторопши пятнистой и олеиновую кислоту в качестве липидной фазы, твин-80 в качестве ПАВ и полиэтиленгликоль-400 в качестве соразтворителя. Разработанные СЭС в дальнейшем использовали для сравнительного анализа гепатотропного действия силимарина и берберина в составе СЭС и в свободном виде при токсическом гепатите в эксперименте. Исследования проведены на взрослых крысах-самцах линии Wistar с исходной массой 210–230 г. Эксперимент выполнен в соответствии с этическими нормами обращения с животными. Токсический гепатит вызывали однократным внутрибрюшинным введением четыреххлористого углерода (CCl_4) в дозе 1 мл/кг в виде раствора на растительном масле. Ежедневно на протяжении 7 суток до введения CCl_4 экспериментальным животным вводили внутримышечно 0,5% крахмальный клейстер, либо силимарин (0,2 ммоль/кг) или берберин (0,2 ммоль/кг) в 0,5% крахмальном клейстере, либо силимарин (0,2 ммоль/кг) или берберин (0,2 ммоль/кг) в составе соот-

ветствующих СЭС. Крысам контрольной группы в это же время внутрижелудочно вводили аликвоты 0,5% крахмального клейстера. Через сутки после последнего введения препаратов животных декапитировали, брали образцы печени, собирали кровь и получали сыворотку, готовили гомогенаты печени. Полученные данные подвергали статистической обработке методом однофакторного дисперсионного анализа. Различия между группами признавали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Как силимарин, так и берберин в составе соответствующих СЭС в большей степени предупреждали развитие цитолиза гепатоцитов, проявляющееся гиперферментемией в сыворотке крови, в сравнении с их действием в свободном виде. Оба препарата при токсическом гепатите, вызванном введением CCl_4 , изменяли активность глутатионовой антиоксидантной системы печени в сторону нормы. При этом более выраженными эффекты были при их введении в составе СЭС. Наиболее чувствительной к действию СЭС с силимарином была глутатионредуктаза: ее активность превышала таковую у животных без лечения на 42%, у животных, которые до интоксикации получали силимарин в виде крахмальной суспензии – на 32%. Профилактическое действие берберина в составе разработанной СЭС наиболее эффективно предупреждало снижение активности глутатион-S-трансферазы (ее значение на 41% превышало таковое у крыс, получавших берберин в свободном виде). Также изучаемые препараты предупреждали снижение активности НАДФ-генерирующих ферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы в печени крыс.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что силимарин и берберин в составе СЭС при остром токсическом гепатите у крыс оказывают более выраженный гепатозащитный эффект в сравнении с их действием в свободном виде, что, вероятно, обусловлено повышением их биологической доступности.

*Счастлиная Н.И.¹, Морозова И.Л.¹, Лотаревич М.А.¹, Лисовская М.В.²,
Михальчук А.Л.², Молчанова А.Ю.¹*

**Влияние N-ациламинокислот в липосомальной форме
и препаратов пальмитоилэтаноламида на ноцицептивную
чувствительность крыс при экспериментальном артрите**

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», г. Минск,
Беларусь

В последнее десятилетие во всем мире, отмечается рост числа заболеваний опорно-двигательной системы. Социальная значимость патоло-

гии суставов определяется большой распространенностью, персистированием боли и воспаления, ухудшением качества жизни пациентов. Поиск новых схем лечения и создание безопасных и эффективных анальгетических и противовоспалительных средств является актуальным. Липосомальные лекарственные формы рассматривают как один из перспективных вариантов современной фармацевтики, для которых отмечена высокая физиологическая активность (антиноцицептивная, противовоспалительная и др.).

Целью исследования явилось изучение анальгезирующего действия пальмитоилэтаноламида (PEA) и N-ациламинокислот: N-пальмитоил-глицина (PalGly), N-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты (Pal-5-Ala) в сравнении с микронизированным PEA (PeaPure, Russell Science) при экспериментальном артрите.

Материалы и методы. Исследования выполнены на крысах-самцах линии Wistar (n=55) с массой тела 200-220 г. Экспериментальный артрит индуцировали введением в полость голенопредплюсневой сустава 4 мг зимозана А (Sigma), растворенного в 50 мкл апирогенного физиологического раствора. Ежедневно оценивали величину отека конечности, массу тела и ноцицептивную чувствительность. Измерение порога ноцицептивной реакции (ПНР) проводили с использованием теста «Рандалла-Селитто» путем измерения силы надавливания (в граммах) пластикового конуса на стопу животного, до и через 1 час после введения тестируемых субстанций, а также на 14 и 21 сутки после инъекции зимозана.

Начиная с 6 суток, крысам внутрижелудочно последовательно в течение 5 дней вводили эмульсии липосом, состоящих из фосфатидилхолина (7,50 мг/мл) с включением (в эквивалентных дозах) PalGly (2,35 мг/мл), Pal-5-ALA (2,77 мг/мл), PEA (2,25 мг/мл) и водного раствора PeaPure (40 мг/мл) в дозе 60 мг/кг. Индивидуальный объем вводимой дозы исследуемых веществ для каждого животного рассчитывали исходя из значения массы тела.

Анализ полученных данных выполняли с использованием программы Ms Excel с определением среднего арифметического значения и его стандартной ошибки $M \pm m$. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Внутрисуставная инъекция зимозана приводила к развитию артрита голеностопного сустава правой лапы. В течение 1 суток размеры сустава увеличились в среднем на 35-45% как по сравнению с начальными значениями, так и по сравнению со здоровой (левой) лапой ($p < 0,05$). К 6 суткам происходило формирование артрита разной степени выраженности, животные при движении старались меньше опираться на поврежденную конечность, прижимая ее к корпусу.

У всех животных с артритом отмечено снижение ПНР, но ноцицепция здоровой левой лапы оставалась на уровне начальных значений. Курсовое введение PalGly сопровождалось увеличением ПНР ($p < 0,05$) на 7 (на 14%), 8 (на 23%) и 9 (на 15%) сутки. Применение Pal-5-ALA также способствовало увеличению ПНР в течение всего периода введения, наиболее выраженные изменения наблюдали ($p < 0,05$) на 9 (на 24%), и 10 (на 17%) сутки. После введения РЕА на 6 сутки эксперимента отмечено увеличение ПНР на 22%, а на 8 – на 28% ($p < 0,05$). Курсовое введение водного раствора ReaPure сопровождалось увеличением ПНР на 6–8 сутки на 44–45%, на 9 – на 58% ($p < 0,05$) по сравнению с его значениями до введения. К 14 суткам эксперимента значения ПНР во всех группах животных возвращались к уровню исходных (до инъекции зимозана).

Заключение. Курсовое введение исследуемых липидных соединений в дозе 60 мг/кг сопровождалось в той или иной степени повышением ПНР у крыс с артритом и характеризовалось нормализацией ноцицептивной чувствительности ипсилатеральной конечности на механический стимул к 14-м суткам эксперимента. Наиболее выраженным обезболивающим эффектом обладали препараты пальмитолэтаноламида, тогда как действие N-ациламиноокислот было выражено слабее.

*Тамашевский А.В.¹, Гармаза Ю.М.¹, Бухвальд Н.А.², Пасюков В.В.²,
Свириновский А.И.², Слобожанина Е.И.¹*

**Редокс-баланс лимфоцитов пациентов с хроническим
В-лимфоцитарным лейкозом в качестве критерия
для персонифицированного учета ответа клеток на терапию**
¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь

²ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий»,
г. Минск, Беларусь

Лабораторный компонент персонализации терапии предполагает использование не только исходных структурных особенностей клеток (в частности мутаций) или выживаемости клеток после контакта с противоопухолевыми препаратами *in vitro*. 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 хроническим В-лимфоцитарным лейкозом (В-ХЛЛ) после воздействия лекарственных средств, применяемых при терапии лейкозов в клинике и оценить их редокс-состояние с целью выявления критерия, подходящего для персонафицированного учета ответа клеток на терапию.

Материалы и методы. В группу пациентов с В-ХЛЛ согласно критериям включения и исключения вошли 25 человек. Иммунофенотипирование на процентное содержание $CD5^+CD19^+$ клеток позволило выделить 2 устойчивые подгруппы: I подгруппа ($n=5$), процентное содержание $CD5^+CD19^+$ клеток в ней составило $3,1 \pm 2,5\%$ (стадия ремиссии) и II подгруппа ($n=20$), в которой количество $CD5^+CD19^+$ клеток составило $82,1 \pm 16,3\%$ (пациенты с диагностированным В-ХЛЛ без терапии). Уровень АФК в В-ХЛЛ лимфоцитах определяли с помощью флуоресцентного зонда 5-хлорометил-2,'7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата. Оценку жизнеспособности мононуклеарных клеток пациентов с В-ХЛЛ 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 и проточном цитофлуориметре FACScanto II (BD).

Результаты и обсуждение. Корреляционный анализ между процентным содержанием $CD5^+CD19^+$ клеток и их чувствительностью к исследуемым противоопухолевым средствам выявил статистически значимую сильную обратную зависимость (r_s от $-0,87$ до $-0,91$, с p от $0,0000003$ до $0,0000005$), что свидетельствует об эффективности выбранных лекарственных средств в отношении субпопуляции $CD5^+CD19^+$. Воздействие исследуемых терапевтических агентов на лимфоциты пациентов с В-ХЛЛ I подгруппы приводило к изменению в них содержания АФК по сравнению с интактными клетками (контроль). Во II подгруппе пациентов содержание АФК увеличивалось после воздействия исследуемых химиопрепаратов (кроме *Flu*). Причем проведенный статистический анализ выявил более значительные изменения редокс-баланса в клетках пациентов с В-ХЛЛ II подгруппы по сравнению с I подгруппой после воздействия на них исследуемых лекарственных средств. Оценка жизнеспособности клеток пациентов при В-ХЛЛ обеих подгрупп выявила статистически достоверное ее снижение по сравнению с контролем. Так, для I подгруппы оно составило в среднем 5-15% относительно контроля для всех исследуемых лекарственных средств. Во II подгруппе снижение жизнеспособности клеток составило в среднем 30-60% по сравнению с контролем. Этот

результат демонстрирует, что клетки пациентов с В-ХЛЛ в стадии ремиссии обладают более низкой чувствительностью к исследуемым лекарственным средствам по сравнению с лейкозными клетками в отсутствие терапии.

Таким образом, обнаружена значительная вариабельность индивидуальной чувствительности клеток пациентов с В-ХЛЛ при воздействии одинаковых концентраций лекарственных средств, близких к терапевтическим, что указывает на необходимость принимать во внимание индивидуальную чувствительность *ex vivo* клеток пациентов к химиотерапевтическим воздействиям. В качестве критерия для возможности персонифицированного учета ответа клеток пациентов с В-ХЛЛ на терапию можно использовать изменение их редокс-баланса.

Терехова Т.Н., Чернявская Н.Д.

Применение лазерной флуоресценции для уточнения состояния твердых тканей первых постоянных моляров

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Наиболее часто кариес развивается в первых постоянных молярах [1]. Для успешного проведения профилактики кариеса необходимо точное определение состояния зубов. Разработаны различные методы оценки состояния твердых тканей зубов. Однако оценка состояния глубоких фиссур на жевательной поверхности моляров представляется весьма сложной проблемой

Цель исследования: изучить состояние твердых тканей интактных первых постоянных моляров с применением индексной оценки и метода лазерной флуоресценции.

Материал и методы исследования. Нами с использованием индекса International caries detection and assessment system (ICDAS) и метода лазерной флуоресценции изучено состояние твердых тканей 265 первых постоянных моляров, оцененных традиционным методом здоровыми.

Для определения кариеса зубов по International caries detection and assessment system (ICDAS) зубы очищали, высушивали в течение 5 секунд, осматривали поверхности коронок зубов, регистрировали состояние зубов кодами предложенными авторами [2]

DIAGNOdent имеет лазерный диод как источник возбуждения света с длинной волны 655 нм и фотодиод как детектор обратного, флуоресцентного потока света. Свет подвели по фиброоптическому волокну к зубу и через минуту обратный поток света регистрировали на цифровом дисплее интенсивность флуоресценции в единицах относительно калибровочного стандарта в диапазоне от 0 до 99 [3]. Авторами

установлены границы измеряемых значений, которые соответствуют той или иной стадии развития кариеса.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения STATISTICA SPSS (версии 12.0) для Windows, используя методы описательной статистики.

Результаты исследования. Большинство исследованных по индексу ICDAS окклюзионных поверхностей зубов имели код 0 и оценены как здоровые. Так, на окклюзионной поверхности зубов 16 и 26 в 103 (81,7%) мезиальных и 104 (82,5%) дистальных ямках, зубов 36 и 46 в 115 (82,7%) мезиальных, 109 (78,4%) центральных и 113 (81,3%) дистальных ямках отсутствовали патологические изменения, что соответствует коду 0. На поверхности эмали 11,1% мезиальных и 7,9% дистальных ямок зубов 16 и 26, 7,9% мезиальных, 10,8% центральных и 8,6% дистальных ямок зубов 36 и 46 определялись белые, или коричневые пятна, которые видны без высушивания, – код 2. Коду 1, когда начальные визуальные изменения эмали в виде белых (опаковых) пятен проявляются после высушивания воздухом и интерпретируются как деминерализация эмали, соответствовало 7,1% мезиальных и 9,5% дистальных ямок зубов 16 и 26, 9,4% мезиальных, 10,8% центральных и 10,1% дистальных ямок зубов 36 и 46. Применение метода лазерной флюоресценции подтвердило отсутствие патологических изменений в 75 (72,8%) мезиальных и 77 (74%) дистальных ямках зубов 16, 26 и в 108 (93,9%) мезиальных, 90 (79,6%) дистальных и 89 (81,7%) центральных ямках зубов 36, 46. В 27,2% мезиальных и 26% дистальных ямок зубов 16, 26, а также в 6,1% мезиальных, 20,4% дистальных и 18,3% центральных ямок зубов 36, 46, оцененных кодом 0 по ICDAS, выявлены более высокие значения показателя лазерной флюоресценции, которые могут свидетельствовать о начальных патологических изменениях или незаконченной минерализации твердых тканей зуба.

Выводы. Полученные данные говорят о необходимости оценки состояния твердых тканей зубов методом лазерной флюоресценции в различные сроки после прорезывания для получения объективных цифровых данных о значениях показателя, поскольку имеющаяся интерпретация касается сформированных, полностью минерализованных зубов.

Литература

1. Кисельникова Л.П., Кириллова Е.В., Шевченко М.А. Опыт применения метода лазерной флюоресценции для определения степени реминерализации эмали и дентина при кариесе зубов у детей // Стоматология детского возраста и профилактика. 2011. – № 3. – С. 7-11.
2. Lussi A., Angmar-Mansson B. Additional diagnostic measures // Dental Caries The disease and its clinical management / Ed. O.Fejerskov, E.Kidd, B.Nyvad, V.Baelum. Blackwell Munksgaard Ltd, 2008. – P. 90-101.

Роль кальций-зависимых механизмов в поглощении наночастиц клетками глиомы С6

¹ ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

² НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь

В последние годы разрабатывается все больше наноплатформ для целевой доставки лекарств, ранней диагностики, тераностики (одновременной терапии и диагностики), а также для исследовательских целей. Это обуславливает актуальность исследования механизмов взаимодействия клеток с наночастицами. Связывание и поглощение наночастиц клетками являются важными факторами, которые определяют биологические эффекты наночастиц и область их применения.

Ионы кальция регулируют многие биологические процессы, в том числе механизмы клеточного эндоцитоза.

Целью данной работы было исследование влияния внутриклеточного кальция на интенсивность маркировки клеток флуоресцентными полупроводниковыми наночастицами с различным зарядом оболочки.

Материалы и методы. Опыты проведены на клетках глиомы С6. Исследовали связывание с клетками люминесцентных наночастиц CdSe/ZnS с гидродинамическим диаметром 15–17 нм и максимумом испускания 580 нм. Наночастицы были инкапсулированы химически модифицированным амфифильным полимером на основе полималеинового ангидрида. Присутствие карбоксильных и четвертичных аммонийных групп в различных соотношениях в оболочке наночастиц обеспечивало варьирование их дзета-потенциала от -33 mV до +22 mV. При проведении экспериментов клетки суспензировали в фосфатном буфере, не содержащем ионов кальция. Вносили в клеточную суспензию один из препаратов: хелатирующий агент этиленгликоль-бис-аминоэтиловый эфир тетрауксусной кислоты (ЭГТА) для связывания внутриклеточных ионов кальция, ингибитор клеточной ГТФ-азы ди-намина - динасор, ингибитор кавеолин-зависимого эндоцитоза - генестеин, ингибиторы клатрин-зависимого эндоцитоза - хлорпромазин или сахарозу, ингибитор макропиноцитоза - этилизопропил амилорид. Затем добавляли наночастицы в конечной концентрации 0,1 мкМ. Клеточные пробы анализировали методом проточной цитометрии с помощью проточного цитофлуориметра BD FACSCanto II, оценивая интенсивность маркировки клеток флуоресцентными наночастицами.

Результаты. Внесение в клеточную суспензию ЭГТА на 68 % усиливало маркировку клеток наночастицами с дзета-потенциалом -33 mV,

в оболочке которых присутствовали только карбоксильные группы. В то же время ЭГТА на 43, 79 и 92% снижал интенсивность маркировки клеток наночастицами с дзета-потенциалом -26 mV; +13 mV; +22 mV, в оболочке которых присутствовало 30, 50 или 100 % четвертичных аммонийных групп. Это свидетельствует о значительной роли кальций-зависимых процессов в поглощении наночастиц, имеющих в оболочке положительно-заряженные группы.

Зависимость поглощения наночастиц от внутриклеточных ионов кальция коррелировала с таковой от клеточной ГТФ-азы динамина. Этот фермент участвует в процессах эндоцитоза и обеспечивает отделение сформировавшейся везикулы от мембранных структур. Ингибитор динамина - динасор усиливал поглощение клетками наночастиц, несущих в оболочке только отрицательно заряженные карбоксильные группы, и дозозависимо снижал поглощение наночастиц, имеющих положительно-заряженные группы. Так, ингибирование динамина на 25, 71 и 80 % снижало поглощение наночастиц, несущих в оболочке 30, 50 или 100 % четвертичных аммонийных групп. Аналогичные, но менее выраженные тенденции отмечены для ингибитора кавеолин-зависимого эндоцитоза - генистеина, который на 25 или 50 % снижал поглощение наночастиц, несущих в оболочке 50 или 100 % четвертичных аммонийных групп.

Заключение. Роль кальций-зависимых механизмов в поглощении наночастиц зависит от заряда присутствующих в их оболочке химических групп и, соответственно, дзета-потенциала наночастиц. Кальций снижает поглощение клетками наночастиц, имеющих в оболочке только отрицательно-заряженные карбоксильные группы, и усиливает поглощение наночастиц, в оболочке которых присутствуют положительно-заряженные четвертичные аммонийные группы. Роль ионов кальция, а также динамин и кавеолин-зависимого эндоцитоза повышается с увеличением доли положительно-заряженных групп в оболочке и дзета-потициала наночастиц.

Тимошук Е.В.

Действие на фитопатогенные бактерии поверхностно-активных веществ, синтезированных в различных условиях культивирования *Nocardia Vaccinii* ИМВ В-7405

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина. В последние десятилетия наблюдается повышение резистентности патогенных микроорганизмов к известным биоцидам, что обусловило поиск новых альтернативных антимикробных препаратов. Из литературы известно, что такими препаратами являются микробные поверхностно-

активные вещества (ПАВ). Благодаря экологической безопасности ПАВ микробного происхождения могут найти потенциальное применение в пищевой промышленности, агропромышленном секторе и медицине. Отметим, что микробные ПАВ являются вторичными метаболитами и, как правило, синтезируются в виде комплекса подобных соединений (амино, глико-, фосфо- и нейтральных липидов). В различных условиях культивирования продуцентов соотношение компонентов комплекса вторичных метаболитов может меняться, что сопровождается изменением их биологических свойств

Цель данной работы – исследовать антимикробные по отношению к фитопатогенным бактериям свойства поверхностно-активных веществ, синтезированных в различных условиях культивирования *Nocardia vaccinii* ИМВ В-7405.

Материалы и методы. Основным объектом исследований являлся штамм *N. vaccinii* К-8, зарегистрированный в Депозитарии микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины под номером ИМВ В-7405.

В работе использовали фитопатогенные бактерии из Украинской коллекции микроорганизмов (УКМ): *Pectobacterium carotovorum* УКМ В-1095, *Pseudomonas syringae* pv. *atrophaciens* УКМ В-1015, *P. syringae* pv. *coronafaciens* - УКМ В-1154, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, а также фитопатогенные бактерии из коллекции отдела фитопатогенных бактерий Института микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины: *Pseudomonas corrugate* 9070, *Xanthomonas vesicatoria* 7790. Штаммы фитопатогенных бактерий были любезно предоставлены сотрудниками отдела фитопатогенных бактерий Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины.

N. vaccinii ИМВ В-7405 выращивали в жидкой питательной среде, содержащей в качестве источника углерода глицерин (1%), а также рафинированное, отработанное после жарки картофеля и мяса подсолнечное масло (2%). В качестве препаратов ПАВ использовали супернатант культуральной жидкости (препарат 1), а также растворы ПАВ, экстрагированных из супернатанта смесью Фолча (препарат 2).

Результаты. Установлено, что препараты 2, синтезированные на всех исследуемых субстратах оказались более эффективными антимикробными агентами, чем соответствующие препараты 1. Так, после обработки препаратами 2 выживание фитопатогенных бактерий родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Pectobacterium* составляло 20-75, 38-71 и 44-85% соответственно. Наиболее сильное антимикробное действие по отношению к практически всем исследуемым фитопатогенным ба-

ктериям проявляли растворы ПАВ, образуемые на отработанном после жарки картофеля масле. Использование промышленных отходов (отработанного масла) для синтеза ПАВ *N. vaccinii* ИМВ В-7405 позволяет не только снизить себестоимость целевого продукта, но и получать высокоэффективные антимикробные препараты.

Показано, что независимо от природы маслосодержащего субстрата (рафинированное или отработанное масло) и степени очистки ПАВ (супернатант, раствор ПАВ) увеличение длительности культивирования *N. vaccinii* ИМВ В-7405 до 7 сут сопровождалось синтезом ПАВ с более высокой антимикробной активностью по отношению к фитопатогенным бактериям, чем ПАВ, образуемые в течение 5 сут выращивания продуцента. Независимо от продолжительности культивирования, растворы ПАВ оказались более эффективными антимикробными агентами по сравнению с соответствующими супернатантами.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования ПАВ *N. vaccinii* ИМВ В-7405 для разработки экологически безопасных препаратов для контроля численности фитопатогенных бактерий.

Титовец Э. П.

Новый механизм оксигенации тканей головного мозга

ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии», г. Минск. Беларусь
Внеклеточная жидкость тканей головного мозга участвует в массопереносе субстратов, газов, сигнальных молекул, нейротрансмиттеров, лекарств, в выводе конечных продуктов метаболизма. Внеклеточная жидкость представляет собой внешнюю среду для клеток мозга. В соответствии с ортодоксальными представлениями конвективное движение жидкости в интерстициальном пространстве, характеристические размеры которого составляют 20–60 нм, неосуществимо и здесь возможна лишь диффузия веществ. Междисциплинарный подход позволяет рассматривать интерстициальное пространство как нанофлюидный домен, в которой движение воды регулируется закономерностями нанофлюидики и конвекция вполне реальна [1].

В работе исследуется методом компьютерного моделирования новый механизм оксигенации тканей головного мозга реализуемый в его нанофлюидном домне. В основе исследуемого механизма лежат следующие положения: (1) перенос кислорода от капилляра головного мозга к нейронам осуществляется конвективным потоком жидкости, (2) радиальный перенос воды из капилляра в интерстициальное пространство осуществляется по действием колебаний внутричерепного гидростатического давления; (3) объёмная скорость переноса во-

ды через гематоэнцефалический барьер регулируется аквапорином-4. Математическая модель построена на уравнениях Кедем-Качальского для объемного потока жидкости, описываемого в рамках линейной неравновесной термодинамики. Решение модели производится с использованием программы Wolfram Mathematica 10.

Результаты моделирования показывают, что с учетом эффекта сверхрастворимости кислорода, характерного для воды нанопространств, конвективный механизм массопереноса кислорода способен обеспечить весь диапазон скоростей дыхания тканей головного мозга при разных состояниях нейрональной активации.

Литература

1. Novel Computational Model of the Brain Water Metabolism: Introducing an Interdisciplinary Approach // E. Titovets // J Comp Biol Sys. – 2018. – V. 2. – P. 103.

Толкачёва В.В., Кравчук А.П., Велисейчик А.А., Алещик А.Ю.

Участие газотрансмиттеров в развитии окислительного стресса различной природы

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г. Гродно, Беларусь

Роль окислительного стресса в развитии патологических процессов, которые осуществляются на клеточном и молекулярном уровнях под действием активных форм кислорода, до сих пор остается актуальным вопросом. Следствием нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса является повышенная перекисидация липидов, что приводит к нарушению важных функций клеточных мембран [2]. К сигнальным системам, выполняющим в клетке регуляторную функцию, относятся и так называемые газотрансмиттеры, среди которых в последнее время большое внимание уделяется сероводороду и оксиду азота [1]. Соответственно, изучение механизмов влияния газотрансмиттеров на функциональную активность клеток может иметь значение не только с позиции дополнительных фундаментальных знаний о принципах оперирования внутриклеточных сигнальных систем, но и с позиции терапевтической и профилактической значимости.

Цель. Изучить участие газотрансмиттеров в развитии окислительного стресса различной природы.

Материалы и методы исследования. Изучали развитие окислительного стресса в условиях алкогольного абстинентного синдрома по Майхровичу (в модификации Лелевича В.В.) [3]. Было сформировано 5 экспериментальных групп животных: контроль (0,9%-ный раствор хлорида натрия внутривенно), 2-5 опытные группы получали 25% р-р этанола в течение 5 суток, с последующим анализом крови (уровень нитрат/нитритов и содержание сероводорода) через 3 часа,

1-е сутки, 3-и сутки и 7-е сутки, соответственно. Также исследовали суммарное содержание нитрат/нитритов в слюне добровольцев с разной суточной активностью в условиях различной продолжительности светлой и темной частей суток (десинхроноз): 1 группа – «жаворонки», 2 – «голуби», 3 – «совы», 4 – «общая популяция».

Результаты. Было установлено, что уровень нитрат/нитритов при моделировании алкогольного абстинентного синдрома увеличился по сравнению с контролем: через 3 часа с $5,14 \pm 0,49$ до $8,39 \pm 0,84$ ($p < 0,05$), через 1-е сутки – до $6,70 \pm 0,40$, на 3-и сутки – до $8,18 \pm 0,83$ ($p < 0,05$) и на 7-е сутки – до $6,85 \pm 0,47$ мкмоль/л, соответственно. При определении содержания сероводорода наблюдалась схожая динамика: через 3 часа с $9,36 \pm 0,51$ до $13,80 \pm 1,06$ ($p < 0,05$), через 1-е сутки – до $21,60 \pm 1,06$ ($p < 0,05$), на 3-и сутки – до $36,51 \pm 1,74$ ($p < 0,05$) и на 7-е сутки – до $30,12 \pm 2,29$ ($p < 0,05$) мкмоль/л по отношению к контролю, соответственно. В группе «общая популяция» суммарное содержание нитрат/нитритов было наименьшим в период зимнего солнцестояния. Данный параметр у добровольцев группы «жаворонки» был выше в условиях одинаковой продолжительности светлой и темной частей суток и в период летнего солнцестояния относительно периода зимнего солнцестояния. Наблюдалось снижение изучаемого показателя на 56,9% у лиц группы «голуби» в период наибольшей продолжительности светлой части суток и на 63,9% в период зимнего солнцестояния в сравнении с периодом весеннего равноденствия.

Выводы. Определение суммарного содержания нитрат/ нитритов и уровня сероводорода может являться маркером аллостатической нагрузки при развитии окислительного стресса различной природы.

Литература

1. Ковалев, И.В. Механизмы влияния газотрансмиттеров на процессы регуляции электрических и сократительных свойств гладких мышц / Ковалев И.В. [и др.] // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2018. – Т. 3, № 3. – С. 606-611.
2. Берёзкин, А. С. Окислительный стресс у пациентов с алкогольным делирием / А. С. Берёзкин, Н.В. Говорин // Социальная и клиническая психиатрия. – 2018. – Т. 28, №:4. – С. 26-30.
3. Особенности обмена гамма-аминомасляной кислоты в печени крыс при разных режимах алкогольной абстиненции / Лелевич В.В. [и др.] // Биомедицинская химия. – 2014. – Т. 60, Вып. 5. – С. 561-566.

Турко М.С., Хурсин П.А., Ивашкевич Л.С.

Определение содержание L-карнитина в биологически-активных добавках

РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь
L-карнитин или витамин B_т представляет собой аминокислоту, природное вещество, родственное витаминам группы В. Карнитин транс-

портирует жирные кислоты в митохондрии, где происходит их расщепление с выделением энергии, в результате чего сжигается лишний жир и одновременно генерируется дополнительная энергия, необходимая для поддержания высокой жизненной активности. Он также выводит из организма токсичные соединения, предотвращая тем самым их накопление.

L-карнитин синтезируется в организме в печени из аминокислоты лизина с участием гидроксилаз. Кроме того, он поступает в организм с продуктами питания. Основными источниками, с которыми L-карнитин попадает в организм, являются белковые продукты: мясо, птица, рыба, молочные продукты. У здоровых детей и взрослых нет необходимости принимать карнитин в виде специальных пищевых добавок. Суточная доза (около 500 мг) содержится в 700 граммах сырого мяса.

Иногда по определенным генетическим или медицинским причинам у некоторых людей (недоношенных детей) процесс выработки этого вещества может быть нарушен. Также чаще других дефицит этого вещества обнаруживают у вегетарианцев, спортсменов, при повышенных физических нагрузках и несбалансированном питании. Ввиду указанных причин в настоящее время начато производство пищевых добавок, содержащих L-карнитин. В Беларуси методика определения L-карнитина в биологически-активных добавках отсутствует.

Цель. Целью работы являлась разработка методики определения содержания L-карнитина в биологически-активных добавках.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись стандартные растворы L-карнитина для установления степени извлечения и биологически-активные добавки. Исследования проводились на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США), оснащенный ультрафиолетовым детектором.

Результаты. Как правило, все биологически-активные добавки, содержащие L-карнитин, являются водорастворимыми. Пробоподготовка образцов осуществлялась следующим способом: навеску $4,0 \pm 0,0001$ г биологически-активной добавки количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. Далее берут аликвоту приготовленного раствора объемом 10 см³ и разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе 100 см³. Все стадии разбавления при приготовлении пробы учитывают. В случае если концентрация L-карнитина в хроматографируемом растворе будет находиться выше диапазона определяемых концентраций, то необходимо разбавить анализируемый раствор и провести повторный анализ при условиях хроматографирования, указанных ниже.

Разработаны условия хроматографирования: колонка Eclipse XDB-C18 (длиной 150 мм, диаметром 4,6 мм и зернением 5 мкм); состав подвижной фазы – 30% ацетонитрила + 70% раствора додецилсульфата натрия (рН = 2,5); объем вводимой пробы – 20 мкл; скорость подачи подвижной фазы – 0,7 см³/мин; температура колонки – 35 °С; длина волны – 210 нм.

Разработанная методика имеет линейность в диапазоне 10–50 мг/дм³ и отличается высокой прецизионностью результатов. Предел повторяемости составляет 9%, предел промежуточной прецизионности 14%.

Заключение. Таким образом, разработана методика определения L-карнитина, позволяющая определять данное вещество в биологически-активной добавке с применением доступного современного аналитического оборудования.

Урбан В.А., Вересов В.Г.

Предсказание *in silico* атомистических структур комплексов низкомолекулярных ингибиторов взаимодействия PD-1/PD-L1 с димером PD-L1

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь

Активации Т-клеток через блокаду/ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1 рассматривается в настоящее время как одна из наиболее перспективных стратегий в лечении онкологических заболеваний [1]. Пять антител, блокирующих взаимодействие PD-1/PD-L1 продемонстрировали впечатляющие клинические результаты. Однако антитела дороги, обладают неконтролируемой иммуногенностью и плохо проникают в ткани. Перспективной альтернативой является разработка и применение низкомолекулярных ингибиторов взаимодействия PD-1/PD-L1, которые лишены многих недостатков, присущих антителам. На настоящий момент идентифицировано более 20 низкомолекулярных ингибиторов взаимодействия PD-1/PD-L1, действующих посредством инициации димеризации PD-L1, инактивирующей взаимодействие с PD-1. Однако лишь для 6 из них были получены сокристаллические структуры с целевым белком (PDB идентификаторы: 5J8O, 5J89, 5N2D, 5N2F, 5NIU, 5NIX) [1]. В то же время, для ряда других низкомолекулярных ингибиторов взаимодействия PD-1/PD-L1, обладающих высоким ингибирующим потенциалом, атомистические структуры их комплексов с PD-L1 остаются неизвестными, что осложняет структурно-обоснованное прогнозирование высокоэффективных ингибиторов PD-1/PD-L1 и их дальнейшую оптимизацию при компьютерном структурно-обоснованном конструировании лекарственных препаратов.

Целью исследования было установление *in silico* атомистических структур комплексов низкомолекулярных ингибиторов из патентов WO2017066227A1, WO2018009505A1, WO2017106634A1, WO2018013789A1, CN106632021 и WO2018006795A1 с димером PD-L1 и определение структурных детерминант эффективного ингибирования взаимодействия PD-1 / PD-L1.

Материалы и методы. 3D-структуры низкомолекулярных лигандов получали, используя программу Avogadro, после чего лиганды структурно выравнивали по бифенильной группе со структурами лигандов в комплексах 5J89 и 5NIX из PDB-банка. Далее структуры комплексов уточняли, используя программы AutoDock и RosettaLigand. Дополнительно, для валидации интерфейса в гидрофобном канале, осуществляли докинг лигандов с PDB-структурами димеров PD-L1, используя программу EADock.

Результаты. Было установлено, что также, как и в экспериментально полученных сокристаллических структурах, бифенильный каркас лигандов встраивается в глубокий гидрофобный канал, который образуется при димеризации PD-L1. У лигандов, содержащих бенздиоксин или дополнительную разветвленную группу у дистального бифенила, канал открыт для растворителя с обеих сторон, в противном случае дистальное фенильное кольцо в бифенильной группе провоцирует перегруппировку боковой цепи Туг56, тем самым закрывая одну сторону канала. Периферические циклические группы лигандов, выходящие за пределы канала, занимают карманы на поверхности димера, граничащие с растворителем, тем самым обеспечивая дополнительные водородные связи. Во всех случаях лиганды в связанном состоянии перекрывают сайт связывания PD-1 в обоих белках PD-L1, что обуславливает блокаду взаимодействия PD-1 / PD-L1.

Выводы. Полученные трехмерные структуры и данные о механизмах взаимодействия низкомолекулярных ингибиторов с димером PD-L1 послужат фундаментом для дальнейшей структурно-обоснованной разработки новых низкомолекулярных ингибиторов с улучшенной активностью и фармакокинетикой.

Литература

1. Peptide-based and small synthetic molecule inhibitors on PD-1/PD-L1 pathway: A new choice for immunotherapy? / T. Chen [et al.] // European Journal of Medicinal Chemistry – 2019. – Vol. 161 – P. 378-398.

Способ одновременной экспресс диагностики лейкоза и вирусного иммунодефицита крупного рогатого скота на основе метода мультиплексной ПЦР

Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности, г. Казань, Россия

Возбудитель лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС) и возбудитель иммунодефицита крупного рогатого скота (ВИ КРС) относятся к семейству *Retroviridae*. ВИ КРС вызывает латентную инфекцию путем воздействия на лимфоциты, моноциты и нейтрофилы и приводит к нарушению иммунного ответа организма на различные инфекционные агенты. Кроме того, ВИ КРС при смешанной инфекции с вирусом лейкоза КРС может усиливать патогенное действие вируса лейкоза на организм животного. Также в силу определенного антигенного сродства ВЛ КРС и ВИ КРС, существует вероятность перекрестного взаимодействия антигена вируса лейкоза из набора для проведения РИД с исследуемой сывороткой крови, содержащей антитела к ВИ КРС. В связи вышесказанным важной задачей является разработка способа одновременной диагностики лейкоза и вирусного иммунодефицита КРС на основе метода мультиплексной ПЦР.

Цель. Одновременная экспресс диагностика лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследования. При проведении данного исследования применялся метод ПЦР в режиме реального времени. Химический состав ПЦР на 1 реакцию: 10 кратный ПЦР буфер – 1,5 мкл; 2,5 мМ НТФ – 1,5 мкл, 25 мМ $MgCl_2$; Taq полимераза (5 ед/мкл) – 0,5 мкл; 10 пМ раствор прямого праймера ВЛ КРС – 0,5 мкл; 10 пМ раствор обратного праймера ВЛ КРС – 0,5 мкл; 10 пМ раствор олигонуклеотидного зонда ВЛ КРС – 0,5 мкл; 10 пМ раствор прямого праймера ВИ КРС – 0,5 мкл; 10 пМ раствор обратного праймера ВИ КРС – 0,5 мкл; 10 пМ раствор олигонуклеотидного зонда ВИ КРС – 0,5 мкл; ДНК – 7 мкл. Общий объем реакционной смеси – 15 мкл. Программа ПЦР: 1 цикл. 95° - 3 мин; 2 цикл. 95° - 15 сек; 60° - 30 сек (детекция по каналам ROX и R6G). 2 цикл - 42 повтора. В исследовании использованы образцы ДНК, выделенные из крови КРС.

Результаты. Был осуществлен поиск полногеномных нуклеотидных последовательностей на интернет-ресурсе NCBI по базе данных: genome со следующими поисковыми запросами «bovine leukemia virus» и «bovine immunodeficiency virus». В найденном массиве данных нами были выбраны следующие полногеномные нуклеотидные последовательности: 1. KO 2120, bovine leukemia virus, complete genome;

2. NC_001413.1, bovine immunodeficiency virus, complete genome. В выбранных последовательностях были определены участки характерные только для геномов ВИ КРС и ВЛ КРС. Для ВЛ КРС это ген, кодирующий капсидный белок р24, а для ВИ КРС составной ген *env*. Далее к этим участкам провирусной ДНК были подобраны следующие олигонуклеотиды для постановки ПЦР: прямой праймер ВЛ КРС 5'-cggccacatgaccagccta-3'; обратный праймер ВЛ КРС 5'-gttctaggtcagcaggagtagggtcg-3'; зонд ВЛ КРС ROX-cggcggtgggctgagctgattg-BHQ2; прямой праймер ВИ КРС 5'-caactatggatcaggacctagaccgc-3'; обратный праймер ВИ КРС 5'-aacccaataaaggcataattgaaacatta-3'; зонд ВИ КРС R6G-aacgcggggaaaggggaggaggatc-RTQ1. С помощью онлайн утилиты NCBI BLAST доказана высокая внутривидовая и гетерогенная специфичность подобранных олигонуклеотидов. С использованием вышеуказанных праймеров и зондов был разработан метод мультиплексной ПЦР для одновременной индикации ВИ КРС и ВЛ КРС в одном исследуемом образце, и доказана работоспособность данного способа при исследовании 23 образцов ДНК, выделенных из крови КРС, положительно реагирующего в РИД. В результате установлено наличие провирусной ДНК ВЛ КРС во всех 23 пробах, ВИ КРС в 5 образцах ДНК коров.

Заключение. Разработан метод мультиплексной ПЦР для одновременной индикации провирусной ДНК возбудителей лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота и доказана его работоспособность.

Федорович С.В.^{1,2}, Гриневич С.В.¹, Воронина П.П.¹

Адаптация пресинаптических окончаний нейронов к изменениям метаболизма

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
Нейротрансмиссия является энергозатратным процессом. Изменения метаболизма сопровождают некоторые патологические состояния, например, такие осложнения сахарного диабета, как гипогликемия и кетоацидоз. В то же время, для лечения эпилепсии используется кетогенная диета, при которой организм пациента вводится в состояние кетоза. До сих пор остается не совсем понятным влияние изменений метаболизма на основные функции пресинаптических окончаний нейронов [1, 2].

Цель. Целью работы является изучение влияния гипогликемии, умеренных (модель кетогенной диеты) и высоких (модель кетоацидоза) концентраций кетоновых тел на экзоцитоз, эндоцитоз, потенциал плазматической и митохондриальной мембраны изолированных пресинаптических окончаний нейронов.

Материалы и методы исследований. Основным объектом исследований были синапсосомы, изолированные пресинаптические окончания нейронов головного мозга крыс. Моделью гипогликемии было удаление глюкозы из инкубационной среды. Моделью кетогенной диеты было добавление умеренной (8 мМ) концентрации кетонового тела β -гидроксibuтирата (БГБ), моделью кетоацидоза было добавление высокой (25 мМ) концентрации БГБ. Экзоцитоз и эндоцитоз изучали с помощью флуоресцентного зонда акридиновый оранжевый. Потенциал плазматической мембраны синапсосом измерялся с помощью флуоресцентного зонда DiSC3(5). Мембранный потенциал внутрисинапсосомальных митохондрий изучался с помощью флуоресцентных зондов JC-1 и родамин-123.

Результаты. Мы показали, что гипогликемия приводит к ингибированию экзоцитоза и снижению потенциалов различных мембран. По своей чувствительности к недостатку энергии они располагаются в такой последовательности: потенциал митохондрий > потенциал плазматической мембраны > потенциал синаптических везикул. Причем потенциал синаптических везикул не изменялся. Обнаруженные изменения, вероятно, носят адаптационный характер, так как снижают вероятность спонтанного освобождения нейромедиаторов и последующего повреждения окружающих нейронов по эксайтотоксичному механизму.

Умеренные концентрации кетоновых тел не влияют на потенциал плазматической мембраны, но ингибируют экзоцитоз и эндоцитоз. Причем эндоцитоз ингибировался в значительно большей степени. Вероятно, такие изменения не приведут к значимому снижению синаптической трансмиссии в нормальных условиях, но при избыточной стимуляции, например, в случае эпилептического припадка, могут вызывать синаптическую депрессию. Мы полагаем, что ингибирование эндоцитоза кетоновыми телами является биофизическим механизмом антиконвульсивного действия кетогенной диеты.

Высокие концентрации кетоновых тел вызывают деполяризацию плазматической мембраны. Так же как и в случае умеренных концентраций, наблюдается ингибирование эндоцитоза, однако, оно носит более выраженный характер, вплоть до полного блокирования. Мы полагаем [3, 4], что деполяризация плазматической мембраны, индуцированная высокими концентрациями БГБ, может вызвать спонтан-

ное освобождение возбуждающих нейромедиаторов и повреждение нейронов при кетоацидозе, опасном осложнении сахарного диабета.

Заключение. Таким образом, функционирование пресинаптических окончаний способно изменяться при воздействии различных метаболических стимулов. Некоторые изменения, как например, при гипогликемии, носят адаптивный характер, некоторые, например, при кетогенной диете, можно использовать для терапии различных заболеваний центральной нервной системы, некоторые, например, при кетоацидозе, вносят свой вклад в патогенез.

Литература

1. Fedorovich SV, Waseem TV (2018) Rev. Neurosci. Vol. 29, P. 343-351
2. Fedorovich SV, Voronina PP, Waseem TV (2018) Neural Reg. Res. Vol. 13, P. 2060-2063.
3. Hrynevich SV, Pekun TG, Waseem TV, Fedorovich SV (2015) Neurochem. Res. Vol. 40, P. 1188-1196.
4. Hrynevich SV, Waseem TV, Hebert A, Pellerin L, Fedorovich SV (2016) Neurochem. Int. Vol. 93, P. 73-81.

Хайруллин Д.Д., Зиннатов Ф.Ф., Нургалиев Ф.М.

Изменения биохимических показателей крови крыс при отравлении нитритами

ФГБОУВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», г. Казань, Россия

Научно доказано, что нитраты и нитриты постоянно присутствуют в организме эндогенно, синтезируясь организмом, причем синтез происходит при любом уровне нитратов в пищевом рационе и питьевой воде. Целый ряд причин, среди которых на первом месте стоит загрязнение продуктов питания из-за чрезмерного применения азотсодержащих удобрений в сельском хозяйстве, способствует нитрат-нитритным интоксикациям. При этом в организме животных возникают поражения почти всех жизненно важных органов и тканей. Нитраты и нитриты считаются способными вызывать канцерогенные процессы [1, 3]. Одним из проявлений острой и хронической интоксикации нитратами и нитритами является метгемоглобинемия и гемическая гипоксия, изменение гематологических и биохимических показателей крови, что влечет за собой многообразные изменения и в органах и тканях [2, 4, 5].

Целью наших исследований было изучение хронической токсичности натрия нитрита и изучить некоторых биохимических показателей крови подопытных белых крыс.

Материалы исследования. Опыты были проведены на 40 белых крысах массой тела 180-200 г, которые были разделены на 4 групп по

10 голов в каждой. Препарат животным задавали внутрь в виде 1%-ного раствора ежедневно при помощи зонда в дозах: первая группа служила контролем и получала в аналогичном виде воду в соответствии на живую массу, вторая группа – 62,8, третьей – 6,28 и четвертой – 3,14 мг/кг. За животными вели наблюдение в течение 60 суток, при этом отмечали поведенческие реакции, оценивали общее состояние и исследовали биохимические показатели крови.

Результаты. Клинические признаки отравления начались на 8-9 сутки в 1 группе белых крыс, которым давали токсин в дозе 1/5 от ЛД₅₀ и проявлялось: угнетением, снижением аппетита, взъерошенностью шерстного покрова. В других группах, получавших токсин, клинические признаки отравления появлялись в более поздние сроки и были менее выражены.

При биохимическом исследовании крови установлено, достоверное повышение печеночных и кишечных ферментов (аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы). Количество общего белка незначительно увеличилось на 14,2 %, количество мочевины во время всего опыта значительно не менялось, наблюдалась тенденция к увеличению содержания железа, 1/5 и 1/100 дозы на 40 и 87 %.

Заключение. Проведенные нами исследования, свидетельствует о том, что натрия нитрит при длительном поступлении в организм 1/5 от ЛД₅₀ в форме 1% раствора приводит к нарушению клинического состояния опытных групп животных, повреждает жизненно важные функции белых крыс и приводит к нарушению биохимических показателей крови.

Литература

1. Аргунов, М.Н. Ветеринарная токсикология с основами экологии / М.Н. Аргунов. – СПб.: Издательство Лань. – 2007. – 416 с.
- Калетиной Н.И. Токсикологическая химия / Под ред. Н.И.Калетиной. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 116 с.
2. Попова, Л.А. Ветеринарный консультант / Л.А.Попова, Б.М.Авакянц, Т.И.Коток, А.И.Будильский, С.И.Акоджян, М.С.Благоднаров // Отравление животных цианогенными растениями. (МГАВМиБ им. К.И.Скрябина) -2007. - №7. - с. 12-14.
3. Хайруллин, Д.Д Гематологические и биохимические показатели крови овец при экспериментальном нитритном токсикозе / Д.Д. Хайруллин, Н.Н. Жестков, Н.М. Ахмерова Ветеринарный врач. 2008. № 1. С. 4-5.
4. Хайруллин, Д.Д. Остаточное количество нитритов в органах и тканях белых крыс. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. 2011. № 1. С. 12-16.

Определение видовой принадлежности туберкулезных микобактерий, инфицирующих человека и крупный рогатый скот
ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности», г. Казань, Россия

Среди множества микроорганизмов, вызывающих патологический процесс в организме млекопитающих, особое место занимают микобактерии. Туберкулёз вызывают бактерии рода *Mycobacterium*, который насчитывает более 100 видов, большинство из которых сапрофиты. Важность в туберкулезной патологии имеют микобактерии, входящие в группу *Mycobacterium tuberculosis complex*. Общепринято, что бактерии этой группы (*M. tuberculosis*, *M. bovis* и *M. africanum*) одинаково успешно инфицируют и человека, и крупный рогатый скот (КРС), однако часть научного сообщества утверждает, что на практике КРС инфицируется только *M. bovis*, а человек только *M. tuberculosis* и *M. africanum*.

Целью данной работы был сравнительный анализ видов и генетических линий туберкулезных микобактерий, идентифицированных у человека и крупного рогатого скота, методом сполиготипирования.

Материалы и методы. Объектом исследования служил биологический материал от крупного рогатого скота, а также больных туберкулёзом пациентов противотуберкулезного диспансера. Подготовка проб для лабораторных исследований проводилась по ГОСТ 26072-89. Для выделения нуклеиновых кислот использовали набор реагентов «ДНК-сорб-В» (ЗАО «ИнтерЛабСервис»). В работе использовались ресурсы Национального центра биотехнологической информации (NCBI) и программные утилиты «BLAST» и «Vector NTI 9.1.0». Для установления видовой принадлежности микобактерий и определения их клеточных линий использовали метод сполиготипирования.

Результаты. Представлена оценка вариабельности участков внутри прямых повторов (спейсеров), которые в лабораторной диагностике используются при сполиготипировании микобактерий и идентификации возбудителей туберкулёза. Сопоставление встречаемости комбинаций различных спейсеров у анализируемых микобактерий, после предварительной индикации *Mycobacterium tuberculosis complex* в исследуемом материале, со сполито-профилем известных микобактерий, дает ответ на вопрос о принадлежности исследуемых микобактерий к конкретной генетической линии. Исследованные в данной работе изоляты были идентифицированы микроскопическими, бактериологическими и молекулярно-генетическими (ПЦР) методами. По результатам сполиготипирования была определена принадлежность выделен-

ных микроорганизмов к генетическим линиям *M. tuberculosis* Beijing, *M. tuberculosis* LAM и *M. tuberculosis* Haarlem. Получить доступ к используемым в сполиготипировании праймерам и идентифицировать сполуго-профиль исследуемого образца можно, используя установленные нами специфичные сполуго-профили различных видов и генетических линий бактерий группы *M. tuberculosis complex*, по ссылке <http://vnivi.ru/images/spoligo.xls>. Сполиготипирование образцов ДНК, полученных из органов животных, еще раз подтвердило их принадлежность к виду *M. bovis*, так как исследованные изоляты микобактерий имели общие для вида *M. bovis* изменения в локусах прямых повторов (отсутствие 3-го, 9-го, 16-го и последних пяти спейсеров). Тем не менее, все 4 изолята *M. bovis* генетически отличались друг от друга. Сполиготипирование образцов ДНК, полученных от людей, подтвердило их принадлежность к виду *M. Tuberculosis*. Результаты показали, что 16 изолятов относились к группе *Beijing*, 2 изолята – к латиноамериканской группе *LAM* и 3 изолята – к европейской группе *Haarlem*.

Выводы. Установлено, что *M. bovis* был идентифицирован лишь у крупного рогатого скота, а *M. tuberculosis* – только у людей, несмотря на то, что имеется немало сообщений о перекрестном инфицировании людей *M. bovis* и животных *M. tuberculosis*. Возбудитель туберкулеза *M. tuberculosis*, идентифицированный у работников сельскохозяйственных предприятий, не был подтвержденным этиологическим фактором инфицирования крупного рогатого скота ни в одном из случаев. Методом сполиготипирования определена принадлежность выделенных у человека микобактерий к генетическим линиям *M. tuberculosis* Beijing, *M. tuberculosis* LAM и *M. tuberculosis* Haarlem.

Хожай Л.И.

Нарушение экспрессии GAT-1- транспортера ГАМК в комплексе Бетцингера в ранний постнатальный период при пренатальном дефиците серотонина

ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»,
г. Санкт-Петербург, Россия

Известно, что нейрохимические вещества, обладающие высокой биологической активностью, такие как серотонин (5-hydroxytryptamine; 5-НТ), γ -аминомасляная кислота (ГАМК) и глутамат, взаимодействуя друг с другом, контролируют многочисленные физиологические функции. Изменения баланса уровней этих соединений в мозге приводит к развитию ряда нейропатологий. γ -аминомасляная кислота (ГАМК) является основным тормозным синаптическим нейротрансмиттером в центральной нервной системе у млекопитающих и челове-

ка. Одним из основных транспортеров ГАМК является GAT-1, основная функция которого состоит в обратном захвате нейротрансмиттера из межклеточного пространства при синаптической нейротрансмиссии, при этом ее эффективность определяется скоростью обратного захвата медиатора. Известно, что становление дыхательной системы у млекопитающих происходит во время первых трех постнатальных недель. Установлено, что последовательная смена фаз респираторного цикла осуществляется бульбоспинальными нейронами комплекса Бетцингера, которая регулируется различными моноаминами и нейрхимическими веществами, среди которых важными являются ГАМК и серотонин, последний, в свою очередь, модулирует тормозные эффекты ГАМК. Изменение баланса уровней этих нейрхимических соединений может приводить к нарушению респираторной функции, развитию апноэ, брадипноэ, синдрому внезапной детской смерти и т.п. В настоящее время данных о динамике экспрессии GAT1 в комплексе Бетцингера в ранний неонатальный период и ее зависимости от эндогенного уровня серотонина в литературе нет. В связи с этим целью работы явилось исследование экспрессии GAT 1 на ранних постнатальных сроках в норме и при пренатальном дефиците серотонина. Работа выполнена на крысах линии Wistar. Для снижения уровня эндогенного серотонина в пренатальный период использовали метод ингибирования триптофан-гидроксилазы (фермента его синтеза) параклорфенилаланином (пХФА) (Sigma, США). Головной мозг у родившихся крысят исследовали на 5, 9 и 20 постнатальных сутках. Иммуноцитохимическую реакцию на выявление GAT-1 проводили с использованием первичных кроличьих поликлональных антител (anti-GABA transporter 1/ GAT-1) (AbCam, Великобритания). Было показано, что у контрольных крыс в комплексе Бетцингера на всех исследованных сроках выявляется сеть отростков и терминалей в нейропиле и синаптические структуры иммуноположительные на GAT-1. На второй постнатальной неделе значения оптической плотности иммуноокрашивания продукта реакции снижаются (примерно в 2 раза) как в терминалях, так и синаптических структурах. К концу третьей недели эти значения вновь повышаются и примерно соответствуют их уровню на ранних сроках развития, при этом значительно увеличивается численность синаптических структур, содержащих GAT-1. У животных, развивавшихся в условиях пренатального дефицита серотонина, в комплексе Бетцингера на всех сроках исследования было выявлено увеличение (в 1,6-2 раза) значений оптической плотности иммуноокрашивания продукта реакции как в отростках в нейропиле, так и синаптических структурах по сравнению с таковыми в контроле. На второй

постнатальной неделе отмечено достоверное снижение значений оптической плотности иммуноокрашивания, а к концу третьей недели имело место повышение этих значений вновь. Таким образом, снижение уровня эндогенного серотонина в пренатальный период (когда формируются как ГАМКергическая, так и серотонинергическая системы) приводит к увеличению экспрессии транспортного белка GAT-1 в респираторном ядре, что, несомненно, будет влиять на регуляцию функций тормозного нейротрансмиттера. Выявленное отклонение в экспрессии GAT-1 может приводить к развитию респираторной дисфункции, а процесс экспрессии GAT-1 может быть мишенью для фармакологической коррекции тормозных эффектов. Полученные результаты будут способствовать пониманию механизма регуляции экспрессии GAT-1 при формировании респираторных патологий.

*Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.¹, Козел А.Р.¹, Козел В.А.¹,
Побойнев В.В.¹, Насер Аль Дин Д.¹, Кушнир П.¹, Кордюкова Л.В.²*

Сравнительный анализ трёхмерных структур гемагглютинина вируса гриппа подтипов Н1 и Н3

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ,
г. Москва, Россия

Противовирусные средства должны быть «нацелены» на фрагменты белков, обладающих достаточно стабильной структурой. Масштабы структурной изменчивости гемагглютинина (НА) вируса гриппа можно оценить путём сравнения всех доступных трёхмерных структур этой молекулы, накопившихся в базе данных Protein Data Bank. Наибольшую эпидемическую опасность представляют штаммы вируса гриппа подтипов Н1N1 и Н3N2. По этой причине в настоящем исследовании мы сравнили 48 цепей НА подтипа Н1 и 41 цепь НА подтипа Н3.

Цель исследования – оценка степени устойчивости фрагментов вторичной структуры гемагглютинина подтипов Н1 и Н3, главных представителей двух филогенетических групп - Группы 1 (Н1) и Группы 2 (Н3).

Материалы и методы. Трёхмерные структуры гемагглютинина Н1 и Н3 отбирали из Protein Data Bank с помощью встроенного алгоритма «sequence similarity». Вторичную структуру гемагглютинина определяли с помощью программы DSSP (<https://swift.cmbi.umcn.nl/gv/dssp/>). Неполные 3D-структуры в выборки не включали. Аминокислотные остатки классифицировали как: находящиеся в составе альфа-спирали во всех структурах; находящиеся в составе бета-тяжа во всех структу-

рах; находящиеся в составе койла (coil – неструктурированное состояние) во всех структурах; находящиеся как в составе альфа-спирали, так и в составе койла в разных структурах; находящиеся как в составе бета-тяжа, так и в составе койла в разных структурах; находящиеся в составе альфа-спирали, бета-тяжа или койла в разных структурах.

Результаты. Показано, что в составе трёхмерных структур цепи НА1 гемагглютинаина подтипа Н1 из всех остатков, образующих бета-тяжи, 69,34% переходят в неструктурированное состояние. Бета-тяжи обладают весьма «расплывчатыми» границами: 1 – 2 остатка как на N-конце, так и на С-конце бета-тяжа примерно в половине случаев находятся в составе койла. В отдельных трёхмерных структурах обнаружено полное исчезновение некоторых бета-тяжей. В цепи НА2 гемагглютинаина подтипа Н1 есть только один бета-тяж, который присутствует во всех 3D-структурах: он включает аминокислотные остатки 638-FE-639. Альфа-спирали НА подтипа Н1 также отличаются неустойчивостью N- и С-концов (70,37% остатков могут переходить в койл в цепи НА1, 30,12% – НА2). Кроме того, в ряде случаев обнаружены «разрывы» двух длинных альфа-спиралей цепи НА2 и исчезновение коротких альфа-спиралей на С-конце.

В составе трёхмерных структур цепи НА1 гемагглютинаина подтипа Н3 54,71% из всех остатков, находящихся в бета-тяжах, но только 2,65% остатков из альфа-спиралей переходят в неструктурированное состояние. Это связано с тем, что в цепи НА1 у подтипа Н3 всего три альфа-спирали. Четвертая альфа-спираль, найденная у 50% всех 3D-структур цепи НА1 подтипа Н1, в случае подтипа Н3 отсутствует. В цепи НА2 у подтипа Н3 нестабильными являются 46,43% остатков в составе бета-тяжей и 11,29% остатков в составе альфа-спиралей. Все пять бета-тяжей (4 из цепи НА2 и 1 – НА1), образующие бета-структуру у основания ножки гемагглютинаина, всегда сохраняются в случае подтипа Н3, хотя они и меняют свою длину. В цепи НА2 полностью может исчезнуть только один бета-тяж, образующий бета-структуру с НА1.

Выводы. Границы элементов вторичной структуры в 3D-структурах молекул гемагглютинаина отличаются непостоянством. Это выражено ярче в случае НА подтипа Н1 по сравнению с Н3. Тем не менее, среди них можно выделить стабильные элементы, присутствующие в 95-100% случаев. Такие относительно устойчивые фрагменты, как, например, бета-структура у основания ножки гемагглютинаина, должны служить мишенями для разработки противовирусной терапии.

Работа выполнена при поддержке Гранта БРФФИ (Б18Р-113) и РФФИ (18-54-00019).

Хрусталёв В.В.¹, Стожаров А.Н.¹, Хрусталёва Т.А.², Побойнев В.В.¹

Особенности «тонкого» спектра флюоресценции триптофана

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

Анализ спектра флюоресценции остатков триптофана в белках традиционно используют в работах, посвящённых изучению структуры этих биополимеров. Известно, что степень полярности растворителя коррелирует с положением максимума длины волны испускания на спектре чистого триптофана. Считается, что положение максимума на спектре флюоресценции как свободного триптофана, так и его остатков в белках варьирует от 308 нм (в абсолютно неполярных растворителях и в белке азурине) до 352 нм (в воде и в глюкагоне). В данной работе нами были получены «тонкие» спектры флюоресценции триптофана с шагом в 1 нм.

Материалом послужили препараты 20 белков и чистого триптофана (Sigma-Aldrich). Спектр флюоресценции триптофана снимали в воде, ацетонитриле, бутаноле, бензоле и гексане. Спектр флюоресценции белков снимали в 0,01М фосфатном буфере при pH=7,4. Все спектры записывали с шагом в 1 нм и в 5 нм на спектрофлюориметре SOLAR CM2203. Длина волны возбуждения флюоресценции – 280 нм.

Положения максимума на спектрах испускания для 20 белков соответствуют таковым из многочисленных источников только при записи с шагом в 5 нм. При записи с шагом в 1 нм на всех спектрах флюоресценции белков заметны два максимума: в районе 330 нм (с колебаниями от 325 до 337 нм) и в районе 360 нм. Для всех использованных белков, кроме пепсина, максимум при 330 нм имеет более высокую интенсивность, чем максимум при 360 нм. Если на спектрах, снятых через 5 нм, варьирует положение единственного максимума флюоресценции (от 327 нм до 350 нм), то на «тонких» спектрах варьирует соотношение интенсивности максимума флюоресценции при 330 нм и при 360 нм. Объяснить такое явление можно тем, что для ароматической системы триптофана наиболее характерны только два перехода из возбуждённого состояния в нормальное: в одном случае энергия теряется в большей степени за счёт испускания фотонов, в другом случае возрастает роль безызлучательного перехода.

В воде чистый триптофан имеет два максимума испускания на «тонком» спектре с преобладанием такового при 360 нм. В бутаноле, ацетонитриле и бензоле триптофан также демонстрирует два максимума испускания, но с преобладанием такового при 330 нм. По мере увеличения содержания воды в её смеси с ацетонитрилом максимум на

спектре испускания триптофана при 330 нм закономерно снижается, а максимум при 360 нм – закономерно возрастает. В гексане «тонкий» спектр триптофана сохраняет пик при 330 нм, полностью теряет таковой при 360 нм, но приобретает наиболее интенсивный максимум при 308 нм. Судя по полученным данным, пик при 360 нм обусловлен взаимодействием постоянного диполя с пи-системой триптофана по типу анион-пи контакта или взаимодействием двух пи-систем «лицом к лицу». Пик при 330 нм обусловлен взаимодействием постоянного или спонтанно возникающего диполя с ароматической системой триптофана по типу катион-пи контакта, или взаимодействием двух пи-систем «край к лицу». Отсутствие полярных взаимодействий приводит к появлению максимума флюоресценции при 308 нм.

Особенности «тонкого» спектра триптофана необходимо учитывать при интерпретации спектральных данных в биофизических и биохимических исследованиях. На спектр флюоресценции остатков триптофана в белках оказывает влияние как близость к ним гидрофобных, полярных и заряженных функциональных групп белка, так и доступность их водному микроокружению.

*Цыганков В.Г.¹, Бондарук А.М.¹, Журихина Л.Н.¹, Капустин М.А.²,
Курченко В.П.²*

**Биологически активные вещества экстрактов цветов
и листьев различных видов тысячелистников (*Achillea*)
и их токсиколого-гигиеническая оценка**

¹РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Актуальной проблемой современной медицины и фармации является разработка лекарственных средств, усиливающих адаптационные возможности организма, повышающих неспецифическую и специфическую (иммунную) сопротивляемость. В этом отношении особого внимания заслуживают лекарственные растения, содержащие биологически активные фенилпропаноидные соединения и в частности представители семейства астровых (*Asteraceae*) рода *Achillea* L. – тысячелистники (более 100 видов). Представлялось целесообразным исследовать состав, содержание и биологическую активность экстрактов из листьев и цветов различных видов этого рода для определения возможности использования перспективных видов в фармации.

Целью работы являлось проведение сравнительного исследования состава биологически активных веществ (БАВ) экстрактов из цветов и листьев различных видов тысячелистников; оценка их антиоксидантной активности и токсичности.

В качестве объекта исследования использовались биологически активных веществ экстрактов цветов и листьев 7 видов тысячелистников: тысячелистник азиатский (*Achillea asiatica* Serg.); тысячелистник Биберштейна (*Achillea biebersteinii* Afan.); тысячелистник таволговый (*Achillea filipendulina* Lam.); тысячелистник мелкоцветный (*Achillea micrantha* Willd.); тысячелистник щетинистый (*Achillea setacea* Waldst. & Kit.); тысячелистник каратавский (*Achillea karatavica* Kamelin); тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.). Состав и содержание БАВ в метанольных экстрактах цветов и листьях исследовалось с использованием газового хроматографа Agilent 6850, оснащенного масс-детектором Agilent 5975B. Антирадикальную активность БАВ экстрактов цветов и листьев проводили на стандартной модели восстановления радикал-катиона ABTS^{•+}. Токсиколого-гигиеническую оценку (острый, подострый эксперимент) экстрактов БАВ проводили на тест-объекте *Tetrahymena pyriformis*.

По результатам ГХ-МС анализа можно заключить, что существуют значительные различия в составе фенилпропаноидных и терпеновых соединений в экстрактах листьев и цветов у всех исследованных видов тысячелистников. Обнаружены значительные межвидовые отличия в составе БАВ экстрактов. Исследование антиоксидантной активности экстрактов показало значительное отличие тролокского эквивалента. Наименьшее значение ТЕАС, показывающее наиболее высокую антиоксидантную активность убывает в ряду экстрактов из тысячелистников: обыкновенный - азиатский - Биберштейна - мелкоцветный - щетинистый - таволговый - каратавский. По содержанию БАВ и антиоксидантным свойствам наиболее перспективными для использования в фармации представляются виды: тысячелистник щетинистый (*Achillea setacea* Waldst. & Kit.); тысячелистник таволговый (*Achillea filipendulina* Lam.); тысячелистник каратавский (*Achillea karatavica* Kamelin).

Первичная токсиколого-гигиеническая оценка экстрактов цветов и листьев различных видов тысячелистников в остром и подостром экспериментах на *Tetrahymena pyriformis* показала, что по среднесмертельной дозе и коэффициенту кумуляции они относятся к 4 классу опасности (является малоопасным).

Таким образом, сравнительное исследование состава БАВ экстрактов из цветов и листьев различных тысячелистников, их антиоксидантной активности и токсичности позволило определить виды перспективные для получения экстрактов с высоким содержанием фенилпропаноидных соединений, которые являются малоопасными и могут найти со-

ответствующее применение при разработке адаптогенных и органопротекторных средств.

Чайковская А.М., Бородин Д.И., Рутковская Ж.А.

Изменение липопротеинового профиля крови у пациентов с гипертиреозом

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Гиперхолестеролемию по данным ВОЗ обуславливает 7,9% от общей смертности населения. Согласно проведенным в 2016 году исследованиям STEPS в Республике Беларусь у 38,2% респондентов был зарегистрирован повышенный уровень холестерина в крови. Связь между гипотиреозом и дислипидемией подтверждена в многочисленных исследованиях. Имеются ограниченные данные о влиянии субклинического гипертиреоза на состояние липидного обмена.

Цель: изучить липопротеиновый профиль крови у лиц с субклиническим гипертиреозом.

Материалы и методы. Сформированы три группы пациентов (все – женщины в возрасте 30–48 лет, индекс массы тела ниже 25 кг/м²). Контрольная группа (n = 25) – практически здоровые женщины, не имеющие нарушения функции щитовидной железы; группа I (n = 20) – пациенты с болезнью Грейвса в состоянии субклинического гипертиреоза; группа II (n = 45) – пациентки с субклиническим гипертиреозом, обусловленным приемом левотироксина после тотальной тиреоидэктомии по поводу папиллярного рака щитовидной железы.

Для исследования использовали плазму крови, в которой определяли содержание тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина (св.Т₄) и трийодтиронина (св.Т₃) методом радиоиммунного анализа; содержание общего холестерина ферментативным методом; содержание холестерина в липопротеинах высокой плотности (ЛПВП) методом избирательной преципитации, концентрацию холестерина в липопротеинах низкой плотности (ЛПНП) турбодиметрическим методом.

Описание данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$. Корреляционный анализ выполняли по методу Спирмена.

Результаты. Выявлено достоверное снижение уровня общего холестерина у пациентов 1 и 2 групп по сравнению с контролем на 17 и 20% соответственно ($p < 0,005$).

Содержание общего холестерина не отражает в полной мере изменение липидного статуса, поскольку в транспорте холестерина по крови принимают участие разные классы липопротеинов. ЛПНП доставляют

холестерол в периферические ткани, их избыток способствует развитию атеросклероза. ЛПВП, напротив, участвуют в обратном транспорте холестерина из периферических тканей, разгружая клетки от избытка холестерина и оказывают, тем самым, антиатерогенное действие.

В исследовании установлено, что концентрация холестерина в ЛПВП снизилась (в 1,3 раза) у пациентов 1 группы. Во второй группе можно наблюдать тенденцию к снижению содержания холестерина в ЛПВП. Не выявлено достоверного изменения содержания ЛПНП, однако, имеется выраженная тенденция к уменьшению уровня холестерина в составе этого класса липопротеинов.

Для оценки риска развития атеросклероза рассчитывали индекс атерогенности ((общий холестерол - ЛПВП)/ЛПВП). В наших исследованиях индекс атерогенности не изменялся у обследованных групп пациентов и составил соответственно 1,9 в 1 группе и 1,8 во 2 группе против 1,8 в группе контроля.

Так как не выявлено различий в показателях липидного обмена у пациенток групп I и II, корреляционный анализ проведен при их объединении.

Выявлена обратная зависимость между уровнем общего холестерина плазмы крови и уровнем Св.Т₄, ($r = -0,89$). Между содержанием в крови св.Т₄ и различных классов липопротеинов (ЛПВП и ЛПНП) у пациентов с субклиническим гипертиреозом также была обнаружена обратная зависимость ($r = -0,75$ (для обеих групп)).

Заключение. У лиц, имеющих субклинический гипертиреоз, в плазме крови снижается уровень общего холестерина и ЛПВП. Имеется выраженная тенденция к снижению ЛПНП. Данный эффект наблюдается вне зависимости от этиологии субклинического гипертиреоза.

Эти зависимости, вероятно, являются результатом изменения экспрессии рецепторов к ЛПНП и увеличением синтеза желчных кислот для выведения холестерина из организма.

Чалисова Н.И.

Влияние кодируемых аминокислот на клеточную пролиферацию и апоптоз в культуре тканей различного генеза

ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»,

г. Санкт-Петербург, Россия

Регуляция метаболизма организма достигается при координированном действии между тканями и механизмами, оперирующими на клеточном уровне. Эти механизмы включают регуляцию специфических генов, что в свою очередь, запускает сложное взаимодействие гормо-

нальных, нейрональных факторов. Одним из таких механизмов может быть регулирующее влияние кодируемых аминокислот на основные клеточные процессы – пролиферацию, апоптоз, дифференциацию клеток. За последние десятилетия накопились данные о том, что кодируемые аминокислоты являются не только пластическим материалом при построении белковых молекул, но сами могут модифицировать экспрессию генов-мишеней и таким образом, играя роль сигнальных молекул, регулировать гомеостаз. В связи с этим актуальной проблемой является исследование влияния кодируемых аминокислот на ткани различного генеза.

Одним из наиболее адекватных методов исследования биологически активных веществ является их тестирование в органотипической культуре ткани, в которой сохраняется иерархическая соподчиненность клеточных популяций на фоне отсутствия нервных и гуморальных влияний, действующих в целостном организме. Изменение количества клеток может служить критерием первичной интегральной оценки биологической активности исследуемого вещества. Целью настоящей работы было скрининговое исследование влияния 20 незаменимых и заменимых аминокислот на пролиферацию и апоптоз в тканях разного генеза. Эксперименты проведены на 2000 эксплантатах сердца, семенников (мезодермальные ткани), печени, поджелудочной железы (энтодермальные ткани), коры головного мозга (эктодермальная ткань) 3-мес крыс линии Вистар. Эксплантаты помещали в чашки Петри с полилизиновым покрытием, заливали 3 мл питательной среды и культивировали в термостате с подачей 5% CO₂ при температуре 37°C. L-аминокислоты (фирма "Sigma" США) – вводились в культуральную среду в эффективной для всех исследованных аминокислот концентрациях 10⁻¹² М. На 3-и сутки эксплантаты просматривали под фазово-контрастным микроскопом, определяли индекс площади (ИП), как соотношение площади всего эксплантата к площади центральной зоны. Для верификации процессов апоптоза проводилось иммуногистохимическое исследование эксплантатов для выявления экспрессии проапоптозного белка p53. Установлено, что в мезо- и энтодермальных тканях клеточную пролиферацию стимулировали гидрофильные аминокислоты с заряженными боковыми цепями – лизин, аргинин, глутаминовая кислота. Зона роста эксплантатов при этом увеличивалась на 25-38% по сравнению с контролем. Гидрофобные аминокислоты (валин, треонин, метионин, изолейцин, фенилаланин, триптофан) не оказывали влияния на мезодермальные ткани (значения ИП оставались на уровне контроля), но вызывали угнетение зоны роста на 27-35% в ткани энтодермального генеза – печени. При

этом на 32-49% увеличивалась экспрессия p53, что свидетельствовало о вовлечении апоптозных процессов при уменьшении клеточной пролиферации. Другие явления наблюдались при культивировании эктодермальной ткани коры головного мозга, где гидрофобные аминокислоты вызывали увеличение ИП эксплантатов на 30-32%. Выявлено также, что в тканях с высоким регенерационным потенциалом – печень и селезенка – четко прослеживается стимулирующее пролиферацию действие аминокислот с заряженным боковым радикалом. Это основные аминокислоты – аргинин и лизин – и кислые – аспарагин и глутаминовая кислота. Вся группа гидрофобных аминокислот вызывает в эксплантатах обеих тканей угнетение пролиферации за счет развития апоптоза. Результаты исследования свидетельствуют о том, что аминокислоты по-разному влияют на процессы пролиферации и апоптоза в тканях различного генеза. Таким образом, имеющийся в организме пул свободных кодируемых аминокислот может оказывать влияние на пролиферацию и апоптоз в различных тканях, причем преимущественное стимулирующее или ингибирующее воздействие какой-либо аминокислоты определяется генезом ткани.

Чаплинская Е.В.¹, Сахно И.П.¹, Мезен Н.И.¹, Гурбо Т.Л.²

**Современные подходы статистической обработки данных
при антропометрических исследованиях**

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт истории НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

Антропометрия – совокупность методов и приемов оценки морфологических особенностей тела человека: измерение длины и массы тела, внешних форм тела (размеров головы, туловища, конечностей) и ряда функциональных показателей (жизненной емкости легких, силы мышц и др.). Современные антропометрические исследования являются высокоточными, информативными и достоверными, благодаря в том числе и методам математической статистики, используемым при обработке и интерпретации их результатов. Арсенал методов статистического анализа достаточно широк, каждый из них соответствует поставленной задаче. Выбор варианта метода статистического анализа зависит от научной гипотезы, вида исследования, типов переменных, числа переменных и их измерений, характера распределения переменных в изучаемой совокупности, объема выборки. С 2018 г. на кафедре биологии Белорусского государственного медицинского университета реализуется научно-исследовательская работа «Сравнительная харак-

теристика антропометрических показателей и адаптационных возможностей студентов БГМУ из разных стран мира».

Цель. Выбор оптимальных методов биостатистического анализа для оценки полученных данных.

Результаты. При выполнении научного исследования имеет место 3 этапа расчетов. *Первый этап* - статистическое наблюдение: измерение и фиксация показателей физического развития студентов. Получаемые данные делятся на две группы: количественные (числовые) и качественные (пол, тип телосложения). *Второй этап* статистического исследования - создание базы данных: группировка, обобщение и оформление в таблицах. *Третий этап* - статистический анализ: методы описательной, индуктивной и многомерной статистики. На данном этапе большую значимость приобретает выбор адекватного статистического критерия для оценки результатов. Различают две группы критериев: параметрические (для них выявлен закон распределения: средние и дисперсия) и непараметрические. К параметрическим критериям относится широко применяемый t-критерий Стьюдента, который используется для больших выборок с нормальным распределением значений показателя. При обработке же малых выборок (менее 16 объектов, при котором t распределение начинает существенно отличаться от нормального) и для больших выборок (при распределении значений с отклонением от нормального) для сравнения неколичественных данных используют непараметрические критерии — U-тест Манна-Уитни для двух независимых выборок; критерий Вилкоксона для сравнения двух зависимых выборок, критерий χ^2 (хи-квадрат). Критерий χ^2 очень удобен и прост в применении, так как не требует предварительного знания вида распределения; не требует предварительного расчета параметров распределения; позволяет сравнивать совокупности с номинальными и порядковыми признаками, кроме того, его преимуществом является возможность применения для анализа качественных признаков и для сравнения нескольких групп (для проверки статистической гипотезы о наличии или отсутствии связи признаков). Далее в работе следует применение корреляционного или регрессионного анализов (для нахождения количественной зависимости между переменными, выраженной в виде уравнения и/или графика).

А заключительным, особо значимым для нашего исследования, является возможность применение факторного анализа. Факторный анализ - это подход, с помощью которого большое число переменных, относящихся к имеющимся наблюдениям, сводят к меньшему количеству независимых влияющих величин, называемых факторами (компонен-

тами). При этом в один фактор объединяются переменные, сильно коррелирующие между собой. Переменные из разных факторов слабо коррелируют между собой. Таким образом, целью факторного анализа является нахождение таких комплексных факторов, которые как можно более полно объясняют наблюдаемые связи между переменными, имеющимися в наличии. С помощью факторного анализа возможно выявление скрытых переменных факторов, отвечающих за наличие линейных статистических связей (корреляций) между наблюдаемыми переменными. Применение множественного регрессионного анализа позволит установить достоверность влияния комплекса факторов на исследуемый признак, установить долю его вариации в зависимости от воздействующих факторов, а также оценить участие каждого фактора во множественной регрессионной связи.

Заключение. С помощью описанных методов статистического анализа в ходе антропометрических исследований есть возможность дать объективную и достоверную характеристику сходства или различий отдельных морфологических и функциональных показателей обследуемых студентов из разных стран мира.

*Челнокова И.А.¹, Голубева Е.Н.², Кулагова Т.А.², Шуба М.В.³,
Поддубская О.Г.³, Стародубцева М.Н.^{1,4}*

Влияние одностенных углеродных нанотрубок на физико-механический образ поверхности глиальных клеток крыс

¹ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», г. Гомель, Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

³НИУ «Институт ядерных проблем» Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь

⁴УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Беларусь

Благодаря своим физико-химическим свойствам нанотрубки являются уникальными наноразмерными структурами, взаимодействующими с организмом на молекулярно-клеточном уровне. В настоящее время ведётся активная работа по разработке методов применения нанотрубок в медицине, в связи с чем возникает необходимость детального исследования влияния нанотрубок на биологические объекты.

Целью работы являлась оценка влияния одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) на структурные и механические свойства поверхности глиальных клеток методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Клетки глиомы крысы линии С6 высевали на стёкла, после прикрепления через 8 часов добавляли одностенные углеродные нанотрубки в комплексах с ДНК в концентрации 4,5 мкг/мл. В контрольных об-

разцах использовался физиологический раствор. Образцы выдерживались 1, 2, 18 и 24 часа. Исследование проводили на атомно-силовом микроскопе NT-206 («Микротестмашины», Беларусь) в контактном режиме сканирования иглой-зондом CSC38 (MicroMasch, Эстония): уровень В, коэффициент жёсткости 0,03 Н/м. Сканировали участки размером 2,5 мкм × 2,5 мкм с разрешением 256 × 256 пикселей. Обработка АСМ-данных осуществлялась при помощи программы SurfaceExplorer («Микротестмашины», Беларусь).

На начальных этапах взаимодействия клеток глиомы с ОУНТ на АСМ-изображениях их поверхности имеются многочисленные инвагинации и структуры по геометрическим параметрам схожие с нанотрубками. В этом временном интервале на световых микрофототграфиях, окрашенных по-Романовскому, выявляется интенсивное образование микропузырьков. Шероховатость мембраны обработанных ОУНТ клеток в течение 1 часа существенно меньше шероховатости мембран контрольных клеток ($p=0,005$, критерий Манн-Уитни). При дальнейшей инкубации клеток с нанотрубками существенных отличий в параметрах шероховатости их мембран от соответствующего параметра для контрольных клеток не наблюдалось. При этом фрактальная размерность поверхности обработанных ОУНТ клеток была существенно меньше фрактальной размерности поверхности контрольных образцов для временных точек 2-24 часа.

Параметры карт (среднее значение сил трения и шероховатость карт) механических свойств (карт сил трения-скольжения) для клеток глиомы на начальных этапах (1 час инкубации) их взаимодействия с ОУНТ были существенно меньше соответствующих параметров для контрольных клеток ($p<0,001$, критерий Манн-Уитни). С увеличением времени инкубации клеток с ОУНТ параметры сил трения увеличиваются и становятся больше значений параметров, характерных для контрольных клеток (для 24 часов инкубации $p=0,004$, критерий Манн-Уитни). На световых микрофотографиях клетки глиомы, обработанные ОУНТ в течении 18-24 часов, характеризуются более развитыми цитоскелетными структурами периферии клеток.

Анализ структурных и механических свойств поверхности клеток глиомы после их взаимодействия с ОУНТ выявил активацию структур кортикального цитоскелета в течение длительного интервала времени (2-24 часа).

Путь, инициированный В.А. Бандариным: от классической биохимии к азам биоинформатики

УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»,
г. Витебск, Беларусь

В 1965 году В.А. Бандарин рассмотрел материалы, представленные первым автором в качестве проекта кандидатской диссертации, и посоветовал продолжить работу под научным руководством профессора Ю.М. Островского. За последующие 50 лет после этой рекомендации методами классической биохимии решались вопросы возрастных изменений обмена веществ, биоуправляемого ультразвука, радиационно-индуцированного атеросклероза, метаболического синдрома и многое другое, что могло бы увеличить число авторов этого сообщения минимум на двух докторов и 25 кандидатов наук. Однако в последние 4 года лавинообразный поток новой информации в молекулярной и клеточной биологии заставил искать новые подходы к биохимическим исследованиям через международные базы данных в рамках биоинформатики. Поэтому вторым автором этой статьи оказалась аспирант, начавшая работу в этом направлении благодаря консультативной поддержке В.В. Хрусталёва.

Исследование видового разнообразия белков может быть инструментом для понимания как эволюции многоклеточных эукариотических организмов, так и их адаптации к изменяющимся условиям среды обитания. При исследовании гемолимфы и гепатопанкреаса прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis* L.) и катушки роговой (*Planorbarius corneus* L.) протеолитическая и антипротеолитическая активности были обнаружены в гепатопанкреасе во всем исследуемом диапазоне значений pH 3,0-9,0. При парном выравнивании с аминокислотной последовательностью трипсина человека и трипсина *Biomphalaria glabrata*, относящейся к семейству брюхоногих моллюсков (*Planorbidae*) из отряда лёгочных моллюсков (*Pulmonata*) как и катушка роговая, процент сходства составил 26,67 %. Установлено, что сайт связывания с этионином содержал по 6 аналогичных аминокислот у *Homo sapiens* (Asp 189, Ser 190, Gln 192, Ser 195, Val 213, Cys 220) и у *Biomphalaria glabrata* со сдвигом на 34-35 аминокислотных остатков (Asp 224, Ser 225, Gln 227, Ser 230, Val 248, Cys 254).

Выполняя исследования на близких видах моллюсков, но отличающихся по механизмам транспорта кислорода, необходимо было выяснить, когда и по каким возможным механизмам произошла их дивергенция. Для определения времени дивергенции были проанализированы 64 нуклеотидные последовательности гистона H4 организмов раз-

личных таксономических групп. Дендрограмму строили с помощью метода Neighbor-Joining. Поскольку существует предположение, что гемоцианин произошел от тирозиназ, были сформированы и сравнены логотипы мотивов из аминокислотных последовательностей гемоцианина и тирозиназ моллюсков. Оказалось, что время дивергенции *Lymnaea stagnalis* и *Planorbis corneus* составило 182 миллиона лет. Данное время относится к тоарской эре (182,7–174,1 миллиона лет назад). Тогда в результате извержений вулканов возник длительный период относительной кислородной недостаточности для живых организмов, в том числе для легочных моллюсков. Можно предположить, что у *Lymnaea stagnalis* возникли некоторые преимущества в транспорте кислорода по сравнению с *Planorbis corneus*. При выравнивании последовательностей гемоцианинов и тирозиназ был обнаружен мотив (H - - - WHR), который присутствует в гемоцианинах и тирозиназах. H (His) соответствует 6 аминокислоте на логотипах гемоцианинов и тирозиназ, WHR (Trp, His, Arg) – 14, 15 и 16 соответственно. Наличие этого общего мотива может свидетельствовать в пользу предположения о происхождении гемоцианинов из тирозиназ, когда в окружающей среде снизилось количество биодоступного кислорода. В последующих исследованиях было установлено, что гомология ферментов нерегулируемого протеолиза у человека и легочных пресноводных моллюсков находится в пределах 66–69 %, а убиквитин-протеасомного пути – 72–76 %. Приведенные данные обосновывают возможность использования моллюсков в качестве модельных организмов для изучения протеолитических процессов и их регуляции.

Шаденко В.Н.^{1,2}, Сидоров А.В.¹

Концентрация глюкозы в тканях моллюска *Lymnaea stagnalis* при экспериментальной гипергликемии

¹ Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

² ГУ «Республиканский научно-практический центр психического здоровья», г. Минск, Беларусь

Глюкоза относится к основным структурным и метаболическим соединениям в живом организме, а её уровень в пространстве интерстиция контролируется и корректируется с высокой степенью надёжности. Накоплены экспериментальные данные, свидетельствующие о сигнальной роли данного соединения и способности нервных клеток к детекции концентрации глюкозы во внутренней среде организма. Пресноводный лёгочный моллюск *Lymnaea stagnalis* (прудовик обыкновенный) широко используется в качестве модельного объекта в различных исследованиях по нейробиологии. Способность к детекции

глюкозы была показана в отношении нейронов, преимущественно входящих в состав его пищевой сети. Известно, что концентрация глюкозы в гемолимфе прудовика может выраженно отличаться в зависимости от внешних условий существования моллюсков, что указывает на устойчивость основных физиологических систем моллюска к многократному возрастанию её уровня во внутренней среде. Тем не менее, вопрос о сохранности глюкозного гомеостазиса органов и тканей прудовика при острой гипергликемии остаётся открытым, что и предопределило проведение данной работы.

Моллюсков содержали в аквариумах при температуре 20 ± 1 °C и свободном доступе к пище. Животные одинакового размерного класса были разделённых на две равные по численности группы ($n = 13$) – контрольную и экспериментальную. Последняя подвергалась 2-часовой экспозиции в 100 мМ водном растворе глюкозы (ч.д.а.) для развития состояния экспериментальной гипергликемии. По окончании инкубации производили забор экспериментального материала: гемолимфы, пищеварительной железы (печени), центрального кольца и буккальных нервных ганглиев (ЦНС), фрагмента мышечной стенки тела, отдельно по каждой особи. Гомогенаты тканей готовили на основе дистиллированной воды, а связанный белок (ТХУ, 50%) осаждали центрифугированием (6000 об/мин, 1 мин). Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом (набор реагентов «Анализ Х», Беларусь) с учётом всех предшествующих разведений материала. Измерения оптической плотности проводили на длине волны 520 нм, длина оптического пути 1 см, при 20 °C посредством спектрофотометра Cary 50 (Variant Inc., Австралия). Данные представлены в виде – среднее $\pm$ ошибка среднего, поскольку нормальность распределения показателей была подтверждена для всех без исключения массивов данных. Данные обрабатывали посредством программы Statistica 6.0. Достоверными считались результаты при уровне значимости (P) меньше 0,05. Установлено, что в нормальных условиях содержания, при свободном доступе к пище, соотношение концентрации глюкозы в гемолимфе ($0,20 \pm 0,02$ ммоль/л) к её содержанию в тканях нервных ганглиев, стенки тела и пищевой железы (печени) пресноводного лёгочного моллюска *Lymnaea stagnalis* составляет 1 : 46 : 90 : 160 соответственно. Инкубация (2 ч) животных в 100 мМ растворе глюкозы приводит к 9-кратному возрастанию уровня глюкозы в гемолимфе, до $1,80 \pm 0,26$ ммоль/л, в то время как в других органах её содержание статистически достоверно не изменяется (нервные ганглии, стенка тела) или незначительно, в 1,2 раза, увеличивается (печень).

Указанные особенности свидетельствуют о наличии развитых физиологических систем поддержания глюкозного гомеостаза в тканях моллюсков, включая нервную. Предполагается, что масштабные сдвиги уровня глюкозы в гемолимфе могут играть сигнальную роль, опосредуя развитие нового функционального состояния организма беспозвоночных. Работа выполнена в рамках проекта БРФФИ Б19-49.

Шевляков В.В., Сычик С.И., Филонюк В.А.

Методика получения водорастворимых полисахародно-белковых субстанций из пыли сухих пищевых дрожжей

РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь
У работников, подвергающихся ингаляционному воздействию пыли сухих пищевых дрожжей (далее – ПСПД), установлена высокая распространенность нарушений здоровья преимущественно аллергического и иммунотоксического генеза. Наиболее эффективное обеспечение гигиенической безопасности их условий труда может быть достигнуто установлением гигиенических нормативов содержания ПСПД в воздухе рабочей зоны. Но ПСПД практически не растворима в воде, поэтому для экспериментального моделирования воздействия на организм, выявления их дозозависимого биологического действия и нормирования необходимо было получить из них растворимый белково-антигенный комплекс.

Целью настоящей работы являлась разработка методики получения из ПСПД экстракта с достаточно высокой концентрацией растворимых полисахародно-белковых антигенных субстанций.

Материалы и методы. Проблема решения данной цели заключалась в высокой устойчивости и прочности клеточной стенки дрожжевых грибов, в основном определяемых входящим в их структуру хитином, который является природным полимером из остатков N-ацетилглюкозаминина, связанных между собой β -(1-40)-глюкозидными связями, ассоциированным с белками. Использование известных способов и методов извлечения из дрожжевых грибов антигенных субстанций экстрагированием насыщенными солевыми растворами, органическими растворителями, растворами соли аммония или детергентами (додецилсульфат) позволило получить экстракты, пригодные как тест-аллергены, но с весьма низким и недостаточным для экспериментов содержанием активных субстанций по белку. В связи с этим для разрушения клеточной стенки и экстрагирования активных белоксодержащих субстанций подбирали способы гидролиза хитина и других структур клеток промышленных штаммов сухих пищевых дрожжевых грибов (хлебопекарные, винные, спиртовые).

Результаты исследования. Для гидролиза поверхностных β -глюкозидных связей между элементарными звеньями азотсодержащего полисахарида клеточной стенки грибов подготовленные образцы пыли сухих дрожжей (механическое измельчение, обезжиривание) подвергали кратковременному воздействию (5 мин) 0,5 М водного раствора трихлоруксусной кислоты при нагревании. Затем после быстрого охлаждения в течение двух часов проводили экстрагирование биомассы в щелочной среде (рН 8-8,4) внесением охлажденного 2М водного раствора гидроксида натрия с последующим отделением осадка центрифугированием. Для агрегации (преципитации) в полученном супернатанте белоксодержащих субстанций и восстановления белкового домена за счет гидрофобного взаимодействия и диссоциации белковых комплексов использовали охлажденную концентрированную соляную кислоту, которую дробно вносили в супернатант до рН 4-4.5 ед. при интенсивном перемешивании. Белковый преципитат выделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 1 ч. Последующее растворение преципитата проводили в физиологическом растворе с постепенным доведением рН до 7.2-7.4 охлажденным 1Н водным раствором гидроксида натрия. Содержание в экстрактах белоксодержащих субстанций определяли методом Лоури. Экстракты сохраняли при – 18-22 °С без добавления консервантов.

На основании апробации различных способов экстракции разработана оригинальная методика получения из сухих пищевых дрожжевых грибов экстрактов с максимально возможным содержанием растворимых белоксодержащих субстанций. С использованием разработанной методики получены экстракты из сухих хлебопекарных, винных, спиртовых дрожжевых грибов с содержанием растворимых полисахаридно-белковых субстанций в концентрациях более 30,0 мг/см³ по белку.

В модельных экспериментах при внутрикожной сенсибилизации белых мышей полученными экстрактами в смеси с полным адъювантом Фрейнда доказана их высокая специфичность и антигенная обособленность, установлены сильная аллергическая активность (1 классу аллергенной опасности) и наличие общих иммунодетерминант белково-антигенных комплексов хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов.

Заключение. Разработана методика, позволившая получить из пыли сухих пищевых дрожжевых грибов экстракты с высоким содержанием полисахаридно-белковых субстанций, обладающих высокой аллергической активностью, с использованием которых в экспериментах обоснована ПДК в воздухе рабочей зоны ПСПД по белку с отметкой «аллерген».

Шематорова Е.К., Шпаковский Д.Г., Словохотов И.Ю., Шаршавина Е.А., Долудин Ю.В., Шпаковский Г.В.

Уникальные для человека формы РНК-полимеразы II и их роль в возникновении рода *Ното* и эволюции нашего вида

ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков

М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», г. Москва, Россия

Происхождение и эволюция нашего вида (*Homo sapiens*) представляет собой одну из важнейших нерешённых проблем современной науки. Бурное развитие сравнительной геномики фактически привело к подтверждению гипотезы Сусуму Оно (Susumu Ohno) о том, что, основным молекулярным механизмом прогрессивной эволюции сложных геномов являются сегментные дупликации, способствующие возникновению новых генных семейств. Применительно к антропогенезу наибольший интерес представляют относительно недавние, специфичные для высших приматов, дупликации [Marques-Bonet T. et al., Nature, 2009. v. 457, No. 7231, p. 877-881 (2009)].

Ранее мы показали, что специфичные для эволюционной линии рода *Ното* сегментные дупликации давностью ~6 и 2 Муа (миллионов лет назад) привели к формированию у человека генов *POLR2J2* и *POLR2J3*, при экспрессии которых синтезируется ряд новых белковых изоформ незаменимой субъединицы РНК-полимеразы II hRPB11 (*POLR2J*), прежде всего уникальные для протеома человека минорные субъединицы hRPB11b α (hRPB11c α) и hRPB11b β (hRPB11c β) [Шематорова Е.К. и др., Цитология, т. 55, № 4, 172-177 (2013)].

Нами установлен практически полный спектр взаимодействий (интерактом) этих белков в нервной (эмбриональный мозг), лимфоидной (клеточная линия Jurkat) и эпителиальной (клеточная линия HeLa) тканях человека, который фактически подтвердил существование у *Homo sapiens* особых форм РНК-полимеразы II, формирующих комплексы генной экспрессии с новыми, слегка видоизменёнными функциями: на примере взаимодействия различных изоформ субъединицы hRPB11 (основной и двух минорных) с субъединицами hRPB3 и hRPB6 в составе комплексов РНК-полимеразы II человека показаны принципиальные различия в структуре этих трёх комплексов основного фермента аппарата транскрипции человека [Шематорова Е.К. и др., Цитология, т. 56, № 9, 690-692 (2014)].

Обнаруженные нами новые формы РНК-полимеразы II с минорными субъединицами hRPB11b α (hRPB11c α) и/или hRPB11b β (hRPB11c β) в своём составе, благодаря взаимодействию с белковыми факторами инициации трансляции (прежде всего eIF3m) или человек-специфическим компонентом COMMD4d [Шематорова Е.К. и др., Цитология,

т. 55, № 4, 172-177 (2013)] совсем недавно открытого комплекса Командир (Commander) [Mallam A.L. & Marcotte E.M., Cell Syst., v. 4, N 5, p. 483–494 (2017)] способны обеспечить как эффективный транспорт вновьсинтезированных ими мРНК к транслирующим рибосомам, так и последующий быстрый везикулярный транспорт синтезирующихся белков к местам их конечной дислокации – например, рецепторов на поверхность соответствующих синаптических мембран [Шематорова Е.К. и др., *Цитология*, т. 55, № 4, с. 172-177 (2013); *Цитология*, т. 57, № 9, 665-666 (2015)]. Получены данные в пользу того, что и деградация комплексов РНК-полимеразы II *Homo sapiens*, содержащих основную (hRPB11a) или минорные (hRPB11b α и hRPB11b β) изоформы субъединицы hRPB11 (POLR2J) в своём составе, происходит разными путями, и что комплексы РНК-полимеразы II с минорными изоформами важны прежде всего в процессах кортикогенеза и гематопоеза, т.е. в функционировании нервной и иммунных тканей человека. Обнаружена повышенная экспрессия мРНК, кодирующих минорные субъединицы hRPB11 (прежде всего hRPB11b β), в некоторых видах рака, что открывает перспективу разработки новых подходов к диагностике и мониторингу ряда онкологических заболеваний человека (лимфома, карцинома, амеланотическая меланома, ретинобластома, нейробластома, глиобластома).

Установлено, что РНК-полимеразные комплексы с минорными изоформами субъединицы hRPB11 (POLR2J) синтезируют одну из форм мРНК гена *CLN3* человека, мутации в котором приводят к возникновению ювенильной формы нейронального липофусциноза (болезнь Баттена). Предложена гипотеза, объясняющая молекулярный механизм развития этого до сих пор неизлечимого нейродегенеративного заболевания [Shematorova E.K. et al., Biology Direct, v. 13 (1): 19 (2018)].

Ширяева Н.В., Вайдо А.И., Щеголев Б.Ф., Сурма С.В.

**Влияние неионизирующих электромагнитных излучений
на ориентировочно-исследовательскую активность
и эмоциональность крыс с различной возбудимостью
нервной системы**

ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»,
г. Санкт-Петербург, Россия

Техногенные источники электромагнитных излучений (ЭМИ) и изменение естественного электромагнитного фона окружающей среды (ослабление, усиление) оказывают существенное влияние на функции организма человека и животных на различных структурных уровнях, что может представлять угрозу для здоровья и экологической без-

опасности живых организмов. В последние годы особенно активно изучаются механизмы воздействия на биологические объекты высокочастотных ЭМИ и ослабленных экранированием магнитных полей (МП). Важным индикатором неблагоприятного влияния таких полей, помимо нарушения когнитивных функций, может служить изменение элементов врожденного поведения. Целью настоящей работы являлось изучение влияния излучения УВЧ-диапазона стандартного WiFi роутера (LinkSys E1200-EE/RU, частота беспроводной связи 2,4 ГГц, 2 внутренние антенны с коэффициентом усиления 4 дБи, выходная мощность 16 дБм, расстояние – 40 см) и ослабленного экранированием внешнего магнитного поля (камера с покрытием из аморфного магнитомягкого материала АМАГ-172) на последующее (через 24 часа) поведение в классическом тесте «открытое поле» (ОП) по Холлу у самцов крыс двух модельных линий: ВП и НП (с высоким и низким порогами возбудимости нервной системы, низковозбудимые и высоковозбудимые, соответственно). Контролем служили интактные животные. Оценивали стандартные характеристики поведения в тесте ОП. Крысы линий ВП и НП были селектированы в лаборатории генетики ВНД и входят в Биоколлекцию ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Экспозиция (12 часов) животных в условиях действия ЭМИ роутера и при ослаблении экранированием внешнего МП привела к изменениям поведения в тесте ОП у крыс исследуемых линий. ЭМИ роутера в большей степени повлияло на крыс высоковозбудимой линии НП и проявилось в усилении реакций замирания и хаотичности движений. Воздействие ослабленного экранированием МП привело к изменениям поведения у крыс обеих линий - у низковозбудимых крыс линии ВП происходило ослабление реакций замирания и увеличение количества поворотов, тогда как у животных линии НП наблюдалось сокращение латентного периода ухода из центра поля, свидетельствующее о повышении уровня их тревожности. При этом также отмечалось снижение эмоциональности, усиление реакций груминга и значительное увеличение хаотичности движений, связанное с индивидуальной реактивностью животных в тесте ОП.

Таким образом, ЭМИ роутера и ослабленные экранированием МП оказывают эмоционально-стрессорное гетерогенное влияние на ряд врожденных поведенческих признаков у модельных линий крыс. Характер выявленных изменений зависит от базового наследственно обусловленного уровня возбудимости нервной системы животных. У высоковозбудимых крыс линии НП, в отличие от низковозбудимых животных линии ВП, под влиянием исследуемых воздействий, различных по своим физическим характеристикам, элементы поведенче-

ского репертуара изменяются аналогичным образом, которое характеризуется существенным возрастанием хаотичности движений.

*Шишло Л.М., Прохорова В.И., Цырусь Т.П., Готько О.В.,
Грицкова О.А.*

**Прогностическая значимость определения растворимого
фрагмента рецептора эпидермального фактора роста HER2/neu
и активности матриксометаллопротеиназы-9 (MMP-9)**

у пациенток, страдающих раком молочной железы

ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии

им. Н.Н. Александрова», д. Боровляны, Беларусь

Проблема рака молочной железы (РМЖ) является одной из самых актуальных в современной клинической онкологии, так как данная патология занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований у женщин во многих странах мира и Республике Беларусь в том числе. По данным Белорусского канцер-регистра в течение 5 лет после проведенного радикального лечения по поводу РМЖ прогрессирование заболевания развивается у около 30,0% женщин, что свидетельствует о наличии ряда нерешенных проблем, связанных с прогнозированием возврата заболевания. Перспективными молекулярно-биологическими маркерами в данном случае являются рецептор эпидермального фактора роста второго типа (HER2/neu) и матриксометаллопротеиназа-9 (MMP-9), но прогностическая эффективность в онкологической практике данных сывороточных маркеров окончательно не подтверждена.

Цель. Целью данного исследования явилась оценка прогностической значимости сывороточного уровня растворимого фрагмента рецептора HER2/neu и MMP-9 у пациенток, страдающих РМЖ.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили данные о 205 пациентках в возрасте от 27 до 85 лет с впервые установленным диагнозом РМЖ I–IV стадии. Группу контроля, сопоставимую с основной группой по возрасту ($p > 0,05$), составили 50 клинически здоровых женщин без онкологической патологии на момент исследования и в анамнезе. Определение содержания HER2/neu в сыворотке крови осуществлялось иммунохемилюминесцентным (ИХЛА) методом, а MMP-9 – иммуноферментным (ИФА). Тканевая экспрессия данных белков установлена при иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании на срезах опухолевой ткани. Полученные данные обработаны непараметрическими методами статистического анализа и представлены как Me (Q25; Q75). Анализ выживаемости до прогрессирования проводился методом Kaplan-Meier с использованием Log-rank

теста. Проведен одно- и многофакторный анализ с использованием регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Установлено, что содержание HER2/neu и MMP-9 в сыворотке крови пациенток со злокачественными новообразованиями молочных желез (14,1 (10,4; 19,6) нг/мл и 1022,0 (792,0; 1350,0) нг/мл соответственно) было статистически значимо выше значений клинически здоровых женщин ($p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,01$). Установлена взаимосвязь сывороточной концентрации и тканевой экспрессии HER2/neu и MMP-9 ($R_{\text{Spearman}} = 0,40$; $p = 0,002$ и $R_{\text{Spearman}} = 0,39$; $p = 0,035$ соответственно). Выявлено, что изучаемые показатели статистически значимо ассоциированы с риском неблагоприятного прогноза РМЖ ($p < 0,05$). На основании коэффициентов, полученных при многофакторном анализе, определены числовые баллы, определяющие риск опухолевой прогрессии. Разработана модель для лабораторной оценки прогноза РМЖ, включающая определение сывороточных уровней рецептора HER2/neu ($\geq 15,7$ нг/мл – 1 балл) и MMP-9 (≥ 1380 нг/мл – 2 балла), а также стадии опухолевого процесса (III–IV стадия – 2 балла), с вычислением суммы расчетных значений (баллов), позволяющих определить группу низкого (0–2 балла) и высокого (3–5 баллов) риска неблагоприятного прогноза. Данная модель обладает высокой диагностической эффективностью (ДЧ=65,2%; ДС=83,9%; ДЭ=82,0%). Наблюдаемая одно- и двухлетняя выживаемость до прогрессирования заболевания в группе пациенток с низким риском (0–2 балла) неблагоприятного прогноза РМЖ составила 96,5 $\pm$ 1,5% и 92,7 $\pm$ 2,7% соответственно. В группе пациенток с высоким риском (3–5 баллов) неблагоприятного прогноза РМЖ наблюдаемая одно- и двухлетняя выживаемость до прогрессирования составила 68,7 $\pm$ 7,9% и 53,1 $\pm$ 9,3% соответственно ($p \text{ log-rank} < 0,001$).

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что растворимый фрагмент рецептора HER2/neu и сывороточная активность MMP-9 в определенной степени отражают уровни тканевой экспрессии их в первичной опухоли и могут стать достаточно адекватными неинвазивными маркерами в дополнение к «тканевым» тестам для оценки прогноза течения РМЖ.

Шпаковский Г.В.¹, Бабак О.Г.², Халилуев М.Р.³, Словохотов И.Ю.¹,
Клыков В.Н.¹, Долудин Ю.В.¹, Шпаковский Д.Г.¹, Кильчевский А.В.²,
Шематорова Е.К.¹, Спивак С.Г.⁴

Молекулярная эволюция стероидных гормональных систем у животных и высших растений

¹ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», г. Москва, Россия

²ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», г. Минск,
Беларусь

³ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва, Россия

⁴УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Как важнейшие компоненты плазматических мембран, непосредственно контактирующих с внешней средой, стероидные соединения (стерины и их производные) чрезвычайно важны в регуляции клеточной активности. В отличие от животных и дрожжей, у которых практически единственными стеринами (стероидными липидами) являются соответственно холестерин и эргостерин, в растениях в заметных количествах присутствуют по крайней мере четыре вида фитостеринов: β -ситостерин, кампестерин, стигмастерин и холестерин. Хотя в начале 80-х годов прошлого века у растений был открыт свой особый класс стероидных фитогормонов – brassinosteroids, целый ряд стероидных гормонов, свойственных прежде всего животным (прегненолон сульфат, прогестерон, 17-гидроксипрогестерон, 16-дегидропрогестерон, андростендион), в них также присутствуют [Simerský R. et al., Journal of Plant Growth Regulation, v. 28, No. 3, p. 125–136 (2009); Pauli G.F. et al., Journal of Natural Products, v. 73, No. 3, p. 338–345 (2010)].

Для детального сравнения стероидогенных систем Plantae и Animalia, мы впервые получили и всесторонне охарактеризовали трансгенные растения табака *Nicotiana tabacum* L., наперстянки *Digitalis purpurea* L. и томата *Solanum lycopersicum* L., эффективно экспрессирующие кДНК гена *CYP11A1* млекопитающих, который кодирует цитохром P450 холестерингидроксилазу/20,22-лиазу или P450scs (от англ. «side-chain-cleaving») – ключевой фермент стероидогенеза, отсутствующий у представителей царства растений, убедительно продемонстрировав, что даже самые эволюционно отдалённые элементы стероидогенных систем Plantae и Animalia функционально совместимы *in vivo* [Спивак С.Г. и др., Генетика, т. 45, № 9, с. 1217–1224 (2009); Спивак С.Г. и др., Биоорганическая химия, т. 36, № 2, с. 241–250

(2010); Shpakovski G.V. et al., BMC Plant Biology, v. 17 (Suppl 1), p. 119–131 (2017)].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у высших растений сохранены в первозданном виде (по-крайней мере до стадии синтеза прогестерона и его первичных производных) начальные этапы впервые описанной для животных и ставшей уже «классической» схемы синтеза стероидных гормонов [Miller W.L., Molecular and Cellular Endocrinology, v. 379. No. 1-2, p. 62–73 (2013)] – одних из первичных биорегуляторов, свойственных всему живому. Дальнейшие наши исследования показали, что эта прогестероновая система гормональной регуляции важна у высших растений для неспецифической защиты от биотических (инфекции такими патогенами, как *Botrytis cinerea*, *Alternaria spp*, *Oidium neolycopersici*, *Cladosporium fulvum* и *Phytophthora infestans*) и абиотических (засуха, засоление) стрессов и используется у лекарственных растений в том числе для синтеза таких важных метаболитов медицинского назначения, как, например, сердечные гликозиды в случае наперстянки.

Важным отличием стероидных гормональных систем растений (и брассиностероидной, и прогестероновой) является то, что при их функционировании используются только мембранные рецепторы (система быстрого, «немедленного» ответа), в то время как в клетках животных для каждого класса стероидных гормонов (прогестины, кортикостероиды, андрогены, эстрогены) в процессе эволюции появились высокоспецифичные ядерные рецепторы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 18-04-01262 и № 18-54-00038) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б18Р-135).

Янулевич В.А., Анучин С.Н.

Рентгенофлуоресцентный анализ содержания химических элементов в биопрбах (волосах) студентов, отличающихся индексом массы тела

УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»,
г. Гродно, Беларусь

Для оптимизации учебного процесса и в целях совершенствования работы по укреплению здоровья студентов, улучшения их физической работоспособности, необходим контроль и оценка физического развития и функционального состояния. Среди множества способов определения оптимального веса самым популярным остается подсчет индекса массы тела (ИМТ), основанный на соотношении массы тела

и его длины (роста) кг/м^2 . Выраженный дефицит массы тела соответствует ИМТ 16-18 (недостаточная масса тела), 18-25 (норма), 25-30 (избыточная масса тела), 30-35 (ожирение первой степени), 35-40 (ожирение второй степени), более 40 (ожирение третьей степени).

Для изучения элементного статуса организма студентов в качестве биосубстратов использовали образцы волос. Волосы, являясь производными эпидермиса, эволюционно сформировались как один из вспомогательных экскреторных органов, которые являются второй по порядку метаболической тканью организма. Волосы представляют собой информативный биосубстрат, вовлеченный в процесс депонирования и аккумуляции минеральных веществ, в определенной мере отражающий как средний (нормальный) уровень содержания отдельных биоэлементов в организме, так и изменения этого уровня в сторону избыточного или недостаточного их содержания. Кроме того, волосы и сами по себе могут участвовать в избавлении организма от токсических элементов, или от избыточного количества эссенциальных элементов, или отражать избыточные потери организмом того или иного элемента (кальция, калия, магния) под влиянием неблагоприятных влияний или патологических процессов. В тоже время волосы характеризуются определенной динамикой роста (0,2-0,5 мм в день), поэтому содержат «запись» не только того, что происходит с обменом веществ в ближайшем прошлом, но и информацию о его состоянии в более отдаленные периоды.

Целью работы являлся анализ микронутриетного статуса организма студентов университета им. Я. Купалы на основе рентгенофлуоресцентного спектрометра ElvaX CER-01, и определение значений индекса ИМТ и его динамики.

В наблюдении участвовали студенты в количестве 21 человек, юноши и девушки возраста 20-24 года Гродненского гос. университета им. Я. Купалы. Они были разделены на две группы. Формирование групп по направлениям и видам двигательной активности осуществлялось на основании таких критериев, как особенности личностной мотивации (пожелания студента), уровень здоровья и физического развития. Обязательными условиями при формировании групп спортивной направленности были: пожелания студентов, а также результаты конкурсного отбора. Для оценки микроэлементного баланса использовали рентгенофлуоресцентный анализ, который не требует сложной пробоподготовки, отличается экспресностью и надежностью. За основу взята методика МВИ.МН 3730-2011 по определению химических элементов в биопробах (волосах) методом РФА на приборе CER-01.

Анализ результатов исследований, отражающих избыточную массу тела, показал значительную разницу в показателях ИМТ у юношей и девушек: у юношей – 22,2 %, у девушек – 16,7 %. Таким образом, юношей с избыточной массой тела больше, чем девушек.

Известно, что у мужчин и женщин соотношение жира и мышц разное. Один и тот же объем мышц имеет больший удельный вес, чем такой же объем жира. Кроме того, один и тот же объем мышц может иметь различную плотность в зависимости от характера регулярной мышечной деятельности. Юноши 16–20 лет претерпевают конец пубертатного периода, который характеризуется приростом мышечной массы.

Анализ показателей, отражающих ожирение 1 степени, позволил установить значительную разницу ИМТ у юношей – 5,5 %, а у девушек – 2,5%. Показатели, отражающие нормальную массу тела, отсутствуют как у девушек, так и юношей.

Для показателей, отражающих недостаточную (дефицит) массу тела, наблюдается значительная разница ИМТ: у юношей – 5,5 %, а у девушек – 50 %.

Астанов А.А.

Химическая подготовка студентов в медицинских ВУЗах – основа для будущего врачевания

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Современное лечение заболеваний не представляется возможным без знания роли микроэлементов, ферментов и продуктов метаболизма при различных патологических состояниях. Определяя вышеуказанные показатели в биологических средах, прежде всего в крови, врач проводит коррекцию их изменений. Особенно это касается пациентов с разнообразной инфекционной патологией, когда могут преимущественно вовлекаться в патологический процесс отдельные органы. При этом, практикующие врачи должны знать минимальное и максимальное содержание того или иного микроэлемента и их взаимосвязь с клиническими проявлениями различных патологических процессов. Программа биохимического обследования пациентов должна предусматривать изучение химических процессов в зависимости от того или иного синдрома.

Методы интерпретации анализов. В обязательную программу обследования больных независимо от синдрома должно входить определение K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , С-реактивного белка, билирубина, мочевины. Применяемая программа позволяет выявить электролитные нарушения, субклиническое или клиническое поражение печени и почек,

а также провести дифференциальную диагностику между вирусным и бактериальным процессами. Тот или иной химический показатель в биологических средах можно использовать для дифференциальной диагностики в тех клинических случаях, когда при одном заболевании показатель уменьшается, а при другом – увеличивается. Более достоверным будет, если изучаемый показатель уменьшается или увеличивается в разы, а не на проценты. С меньшей долей достоверности можно использовать биохимические показатели, когда при одном заболевании тот или иной изучаемый химический элемент не изменяется, т.е. остается в пределах нормальных величин, а при другом заболевании увеличивается или уменьшается. При отклонении показателя в одну сторону при различных заболеваниях не представляется практически возможным использовать полученные результаты для дифференциальной диагностики, так при различных по этиологии заболеваниях могут быть одинаковые показатели. Важным в оценке показателей является и диапазон колебаний изучаемого показателя. При больших величинах изменений с помощью методов вариационной статистики можно при достаточной выборке рассчитать уровень показателя для дифференциальной диагностики. В качестве примера можно привести исследование С-реактивного белка при нейроинфекциях. В контрольной группе практически здоровых людей его содержание не превышает 5-6 мг/л, при вирусных нейроинфекциях содержание не превышает 70-80 мг/л, а при бактериальном процессе от 100 мг/л до 300-500 мг/л. Содержание С-реактивного белка можно использовать и для контроля эффективности лечения. Ферменты, отражающие цитолиз при поражении печени (АлАт и АсАт) увеличиваются при заболеваниях, вызванных гепатотропными вирусами, герпетической группой вирусов и при некоторых бактериальных процессах, в частности при иерсиниозах. Однако при поражении гепатотропными вирусами клеток печени активность вышеуказанных ферментов увеличивается в 5-20 раз по сравнению с нормой, а при других патологических состояниях не более чем в 2 раза. При обнаружении таких изменений необходимо корректировать программу дальнейшего лабораторного обследования пациентов для уточнения этиологии патологического процесса и соответственно этиотропного лечения.

Заключение: предлагаемый подход к клинической интерпретации химических анализов крови позволит улучшить качество и дифференциальную диагностику различных патологических состояний. Преподавание химических дисциплин в ВУЗе студентам поможет будущему врачу найти оптимальный подход для уточнения этиологии заболевания с минимальными экономическими затратами.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.</i> Влияние N-ацетилцистеина на содержание факторов роста в легких новорожденных морских свинок в условиях гипероксии.....	3
<i>Кравченко И.А., Нестеркина М.В.</i> Модуляторы TRP и ГАМК рецепторов как основа для создания полифункциональных лекарственных препаратов....	4
<i>Кривопалова М.А., Глубокова М.Н., Макарычев Н.О., Приходько А.Н.</i> Исследование комплексообразования в растворах гумусовых кислот	6
<i>Кривопалова М.А., Глубокова М.Н., Тузулина Н.В.</i> Биодоступность гумата кальция.....	8
<i>Кузнецова Н.Б.</i> Динамика содержания свободных аминокислот (фенилаланина и тирозина) плазмы крови при системной красной волчанке и ревматоидном артрите	9
<i>Кузовкова А.А., Ивашкевич Л.С.</i> Методики определения золедроновой кислоты в воздухе рабочей зоны фармацевтических предприятий и в воздухе населенных пунктов.....	11
<i>Куничкина А. А., Шолух М. В.</i> Наночастицы диоксида титана, покрытые декстран сульфатом, как наноразмерные катионообменники	12
<i>Курченко В.П., Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Журихина Л.Н., Капустин М.А.,</i> Получение комплексов включения β-циклодекстрина с биологически активными веществами, их токсиколого-гигиеническая оценка	14
<i>Курьян Н.Н.</i> Исследования волос курящих жителей г. Гродно и Гродненской области	15
<i>Кухаренко Л.В., Чижик С.А., Дрозд Е.С., Гольцев М.В., Мороз-Водолажская Н.Н.</i> Оценка морфофункционального состояния тромбоцитов пациентов с хронической сердечной недостаточностью с помощью атомно-силовой микроскопии.....	17
<i>Khotko E.A., Tahanovich A.D., Murashko D.I.</i> The association CXCR4 chemokine receptor 4 and CXCR5 chemokine receptor 5 gene variants with chronic obstructive pulmonary disease	19
<i>Лабор С., Степура И.И., Степура В.И., Травкина М., Янцевич А.В.</i> Влияние мелатонина на окисление тиамина и его фосфорных эфиров оксоферрильными формами миоглобина.....	20
<i>Литвинова Т.М., Косенко И.А., Державец Л.А., Хорошун М.В.</i> Оценка некоторых систем гомеостаза при раке эндометрия	22
<i>Литвинова Т.М., Матылевич О.П., Моисеева О.Н., Ясенко Д.М., Пранович И.М.</i> Кровотечения при раке шейки матки IIВ-IV стадий и оценка их лечения в учреждениях неонкологического профиля.....	23

<i>Литвинова Т.М., Церковский Д.А., Юневич Л.И., Пранович И.М., Хорошун М.В.</i> Влияние операции и брахитерапии на процессы опухолевой прогрессии в эксперименте <i>in vivo</i>	25
<i>Лопатина Н.Г., Зачепило Т.Г., Сурма С.В., Дюжикова Н.А., Стефанов В.Е., Щёголев Б.Ф.</i> Пищевая и когнитивная активность медоносной пчелы в условиях меняющегося магнитного поля Земли	27
<i>Лукияница В.В.</i> Квазихимические реакции молекул воды, стимулированные электромагнитными полями	28
<i>Лукияница В.В.</i> Новая гипотеза формирования клеточной структуры живого вещества при зарождении жизни на Земле.....	30
<i>Макаревич К.О.</i> Сравнение доз облучения пациентов мужского и женского пола при рентгенологических исследованиях	32
<i>Малах О.Н., Крестьянинова Т.Ю.</i> Протекторный эффект гипобарической гипоксии при радиоактивном поражении организма.....	33
<i>Малашко В.В., Тумилович Г.А., Сукач В.Л., Шенгаут Л.-Д., Анишквичюс М., Латвис В., Шенгаут Я., Малашко Д.В.</i> Ультраструктурные и биохимические изменения в мышцах животных при воздействии лазерным излучением	35
<i>Мамонина Д.А., Смолякова Р.М.</i> Молекулярно-биологические нарушения при стенокардии напряжения.....	37
<i>Мартусевич А.К., Ковалева Л.К., Мартусевич А.А., Голыгина Е.С.</i> Патогенетическое обоснование синглетно-кислородной терапии при экспериментальной термической травме	38
<i>Мартусевич А.К., Ковалева Л.К., Шумаев К.Б., Краснова С.Ю., Голыгина Е.С.</i> Биорадикальный гомеостаз: трансформация представлений о свободнорадикальной биомедицине и базис для создания инновационных лечебных технологий.....	40
<i>Мартусевич А.К., Краснова С.Ю., Голыгина Е.С., Галка А.Г.</i> Оценка системных эффектов гелиевой холодной плазмы	42
<i>Маслова Г.Т., Зажогин А.П., Трубецкая А.С., Титова А.В.</i> Использование морфоструктурного анализа и лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии высохших капель плазмы крови для диагностики пациентов с опухолями головного мозга	44
<i>Миргазов Д.А., Осянин К.А., Хаммадов Н.И., Косарев М.А.</i> Анализ распределения бруцелл в органах лабораторных животных при гипериммунизации живым бруцеллезным антигеном.....	46
<i>Мневцев Д. В., Дудко А.В., Давидовский А. И., Вересов В. Г.</i> Исследование методом молекулярной динамики роли фосфорилирования метаксина-1 во VDAC2-Вак-опосредованном апоптозе	47

<i>Мокрушин А.А.</i> Эффекты смысловых и антисмысловых олигодезоксинуклеотидов к субъединице GluN1	
<i>N</i> -метил-D-аспаратного рецептора	49
<i>Нечипуренко Н.И., Пашковская И.Д., Прокопенко Т.А.</i> Биохимические нарушения у пациентов с транзиторной ишемической атакой.....	50
<i>Никитина Е.А., Иванова П.Н., Журавлев А.В., Савватеева-Попова Е.В.</i> Возраст-зависимые нарушения долгосрочной памяти и двигательной активности в условиях нарушения баланса кинуренинов у дрозофилы	52
<i>Николаев С.В., Логвинов И.О., Круглов С.В., Антипова Т.А., Сазонова Н.М., Антипов П.И., Гудашева Т.А.</i> Активация Erk-киназного пути под действием димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 в разных культурах клеток	53
<i>Овчаренко И.А., Шевченко О. С., Овчаренко С. С.</i> Биохимические аспекты деструктивного мультирезистентного туберкулеза легких.....	55
<i>Odnorih L.O., Kushynska M. Ye.</i> Cortisol indexes changes in unstable angina pectoris according to the age	56
<i>Отеллин В.А., Хожай Л.И., Шишко Т.Т.</i> Влияние салифена, производного γ -аминоасляной кислоты, на экспрессию рецептора GABARA1 у крыс, перенесших перинатальную гипоксию.	57
<i>Павлова О.В., Гладкая О.К., Трусова М.М.</i> Использование хитозана в качестве энтеросорбента при отравлениях формальдегидом и фенолами...	59
<i>Павлюковец А.Ю., Шейбак В.М.</i> Сравнительный анализ спектра свободных аминокислот в тканях иммунной системы	60
<i>Панасенко С. И., Ковальчук С. Б.</i> Биофизические аспекты флотации грудной клетки	62
<i>Пашкова О.Л., Рукша К.Г., Северин И.Н., Портянко А.С., Дорошенко Т.М.</i> Изучение тубулинов клеточных линий лимфом человека	63
<i>Пашковская И.Д., Нечипуренко Н.И., Прокопенко Т.А.</i> Показатели про-, антиоксидантной системы и метаболиты углеводного обмена у пациентов с разорвавшимися артериальными аневризмами в различные сроки после нейрохирургического лечения.....	65
<i>Побойнев В.В., Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А.</i> Структурная изменчивость белков.....	67
<i>Покачайло Л.И., Повалишев В.Н., Назаров В.А., Турук Е.В.</i> Сравнительное химико – фармакологическое исследование препаратов на основе висмута калия цитрата.....	69
<i>Полуян О.С., Костюк С.А.</i> Разработка метода мультиплексной ПЦР в режиме реального времени для определения уровней нормализованной	

экспрессии генов матриксных металлопротеиназ при артропатиях коленного сустава	70
<i>Popinako A.V.</i> Analysis of serotonin 5-HT ₃ receptor and its models: identification of conformational state of the structure.....	72
<i>Popinako A.V., Sokolova O.S.</i> Analysis of the interactions between ABP1 and ARP2/3 complex in two binding sites by molecular dynamics simulation	74
<i>Prisnyi A.A.</i> The effect of osmotic stress on the microrelief of the medicinal leech hemocytes	75
<i>Prisnyi A.A., Moiseeva A.A., Skvortsov V.N.</i> The effect of fluoroquinolones on chick blood viscosity	76
<i>Прокопенко Т.А., Пащковская И.Д., Нечипуренко Н.И., Зажогин А.П., Патапович М.П.</i> Оценка динамики метаболизма ЖНЭ в организме пациентов с заболеваниями мозга методом атомно-эмиссионной спектрометрии образцов плазмы крови	77
<i>Прохорова Т.В., Каспер Т.И., Побойнев В.В., Латушко Т.В.</i> Изучение адсорбции катионов тяжёлых металлов некоторыми овощами и фруктами.....	79
<i>Pyatchanina T.V., Klyuchko O.M., Mazur M.G.</i> Using of contemporary methods of medical microimages automatic processing in practical oncology	81
<i>Романовский И.В., Игнатчик Д.А., Житникова В.Ю</i> Влияние пропилтиоурацила и диацетофенонилселенида на тиреоидный гормональный статус, состояние процессов перекисного окисления липидов и системы глутатиона в организме экспериментальных животных	82
<i>Ростовцев В.Н.</i> Физико-химические биопроцессы.....	83
<i>Рудниченко Ю.А., Мелик-Касумов Т.Б.</i> Комплексное влияние пищевых добавок на некоторые биохимические показатели молодых самцов крыс в условиях хронической сердечной недостаточности	85
<i>Руткевич С.А., Лецик О.</i> Регистрация электроэнтерограммы тонкого кишечника человека с помощью аппаратно-программного комплекса Нейрон-Спектр-4.....	87
<i>Саваневская Е.Н., Чумак А.Г.</i> Отражение вкусовой рецепции растворов NaCl и C ₆ H ₁₂ O ₆ различных концентраций в электрической активности фронтальных областей коры больших полушарий человека	88
<i>Садыков Р.А., Исмаилов Б.А.</i> Новое полимерное покрытие для достижения аэро- и гемостаза из производных целлюлозы	90
<i>Свиридов О.В., Дубовская Л.В., Яковлев-Малых Н.Н., Камышников В.С.</i> Создание реагентной базы определения плазматического ассоциированного с беременностью белка А сыворотки крови мужчин и небеременных женщин	

для высокочувствительной модельной иммунофлуориметрической тест-системы «ЛИФМА-ПАББ-А»	92
<i>Сикор А.Н.</i> Сравнительная оценка эффективности современных дезинфицирующих препаратов	93
<i>Симирский М.В., Подуян О.С., Канитулец С.П.</i> Роль уропатогенных микоплазм в процессах образования мочевых камней	95
<i>Somova E.V., Tynynyka L.N., Nikolchenko A.Yu., Musatova I.B.</i> The effect of ozonized solutions on regenerative processes in the skin after its cryoinjury	96
<i>Сперанская Е.Ч.</i> Железодефицитная анемия новые способы диагностики	98
<i>Сперанская Е.Ч., Маслова Г.Т., Полюхович Г.С.</i> Изучение механизмов антиокислительного действия каротиноидов in vivo и in vitro	99
<i>Степуро И.И., Лабор С., Степуро В.И., Травкина М., Янцевич А.В.</i> Тиамин ингибирует образование пероксидов триптофана и пероксидов триптофанильных остатков белков, вызванных действием ультрафиолета на триптофан и белки.....	100
<i>Султанова Г.Г.</i> О механизмах изменения активности АХЭ-азы эритроцитов некоторыми пестицидами.....	102
<i>Сутько И.П., Шляхтун А.Г., Титко О.В., Янкевич Н.В., Телегин П.Г., Колодко А.В., Зверинский И.В.</i> Гепатопротекторное действие самоэмульгирующейся системы с берберином при экспериментальном повреждении печени крыс ацетаминофеном	104
<i>Сутько И.П., Шляхтун А.Г., Титко О.В., Янкевич Н.В., Телегин П.Г., Колодко А.В., Зверинский И.В.</i> Оценка эффективности применения самоэмульгирующихся систем с силимарином и берберином в эксперименте	106
<i>Счастливая Н.И., Морозова И.Л., Лотаревич М.А., Лисовская М.В., Михальчук А.Л., Молчанова А.Ю.</i> Влияние N-ациламинокислот в липосомальной форме и препаратов пальмитоилэтаноламида на ноцицептивную чувствительность крыс при экспериментальном артрите.....	107
<i>Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М., Бухвальд Н.А., Пасюков В.В., Свирновский А.И., Слобожанина Е.И.</i> Редокс-баланс лимфоцитов пациентов с хроническим В-лимфоцитарным лейкозом в качестве критерия для персонализированного учета ответа клеток на терапию	109
<i>Терехова Т.Н., Чернявская Н.Д.</i> Применение лазерной флуоресценции для уточнения состояния твердых тканей первых постоянных моляров.....	111
<i>Терпинская Т.И.¹, Балашевич Т.В.¹, Янченко Т.Л.¹, Радченко А.В.², Артемьев М.В.²</i> Роль кальций-зависимых механизмов в поглощении наночастиц клетками глиомы С6.....	113

<i>Тимошук Е.В.</i> Действие на фитопатогенные бактерии поверхностно-активных веществ, синтезированных в различных условиях культивирования <i>Nocardia Vaccinii</i> ИМВ В-7405	114
<i>Титовец Э. П.</i> Новый механизм оксигенации тканей головного мозга	116
<i>Толкачёва В.В., Кравчук А.П., Велисейчик А.А., Алещик А.Ю.</i> Участие газотрансмиттеров в развитии окислительного стресса различной природы	117
<i>Турко М.С., Хурсин П.А., Ивашикевич Л.С.</i> Определение содержание L-карнитина в биологически-активных добавках	118
<i>Урбан В.А., Вересов В.Г.</i> Предсказание <i>in silico</i> атомистических структур комплексов низкомолекулярных ингибиторов взаимодействия PD-1/PD-L1 с димером PD-L1.	120
<i>Усольцев К.В., Хаммадов Н.И., Осянин К.А., Фаизов Т.Х.</i> Способ одновременной экспресс диагностики лейкоза и вирусного иммунодефицита крупного рогатого скота на основе метода мультиплексной ПЦР	122
<i>Федорович С.В., Гриневич С.В., Воронина П.П.</i> Адаптация пресинаптических окончаний нейронов к изменениям метаболизма	123
<i>Хайруллин Д.Д., Зиннатов Ф.Ф., Нургалеев Ф.М.</i> Изменения биохимических показателей крови крыс при отравлении нитритами.....	125
<i>Хаммадов Н.И.</i> Определение видовой принадлежности туберкулезных микобактерий, инфицирующих человека и крупный рогатый скот	127
<i>Хожай Л.И.</i> Нарушение экспрессии GAT-1- транспортера ГАМК в комплексе Бетцингера в ранний постнатальный период при пренатальном дефиците серотонина	128
<i>Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А., Козел А.Р., Козел В.А., Побойнев В.В., Насер Аль Дин Д., Кушир П., Кордюкова Л.В.</i> Сравнительный анализ трёхмерных структур гемагглютинирина вируса гриппа подтипов Н1 и Н3 ...	130
<i>Хрусталёв В.В., Стожаров А.Н., Хрусталёва Т.А., Побойнев В.В.</i> Особенности «тонкого» спектра флюоресценции триптофана.....	132
<i>Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Журихина Л.Н., Капустин М.А., Курченко В.П.</i> Биологически активные вещества экстрактов цветов и листьев различных видов тысячелистников (<i>Achillea</i>) и их токсиколого-гигиеническая оценка.....	133
<i>Чайковская А.М., Бородин Д.И., Рутковская Ж.А.</i> Изменение липопротеинового профиля крови у пациентов с гипертиреозом	135
<i>Чалисова Н.И.</i> Влияние кодируемых аминокислот на клеточную пролиферацию и апоптоз в культуре тканей различного генеза.....	136

<i>Чаплинская Е.В., Сахно И.П., Мезен Н.И., Гурбо Т.Л.</i> Современные подходы статистической обработки данных при антропометрических исследованиях.....	138
<i>Челнокова И.А., Голубева Е.Н., Кулагова Т.А., Шуба М.В., Поддубская О.Г., Стародубцева М.Н.</i> Влияние одностенных углеродных нанотрубок на физико-механический образ поверхности глиальных клеток крыс.....	140
<i>Чиркин А.А., Долматова В.В.</i> Путь, инициированный В.А. Бандариным: от классической биохимии к азам биоинформатики	142
<i>Шаденко В.Н., Сидоров А.В.</i> Концентрация глюкозы в тканях моллюска <i>Lymnaea stagnalis</i> при экспериментальной гипергликемии	143
<i>Шевляков В.В., Сычик С.И., Филонюк В.А.</i> Методика получения водорастворимых полисахародно-белковых субстанций из пыли сухих пищевых дрожжей.....	145
<i>Шематорова Е.К., Шпаковский Д.Г., Словохотов И.Ю., Шаршавина Е.А., Долудин Ю.В., Шпаковский Г.В.</i> Уникальные для человека формы РНК-полимеразы II и их роль в возникновении рода <i>Ното</i> и эволюции нашего вида.....	147
<i>Ширяева Н.В., Вайдо А.И., Щеголев Б.Ф., Сурма С.В.</i> Влияние неионизирующих электромагнитных излучений на ориентировочно-исследовательскую активность и эмоциональность крыс с различной возбудимостью нервной системы.....	148
<i>Шишло Л.М., Прохорова В.И., Цырусъ Т.П., Готько О.В., Грицкова О.А.</i> Прогностическая значимость определения растворимого фрагмента рецептора эпидермального фактора роста HER2/neu и активности матриксметаллопротеиназы-9 (ММР-9) у пациенток, страдающих раком молочной железы	150
<i>Шпаковский Г.В., Бабак О.Г., Халилуев М.Р., Словохотов И.Ю., Клыков В.Н., Долудин Ю.В., Шпаковский Д.Г., Кильчевский А.В., Шематорова Е.К., Спивак С.Г.</i> Молекулярная эволюция стероидных гормональных систем у животных и высших растений	152
<i>Янулевич В.А., Анучин С.Н.</i> Рентгенофлуоресцентный анализ содержания химических элементов в биопрбах (волосах) студентов, отличающихся индексом массы тела.....	153
<i>Астапов А.А.</i> Химическая подготовка студентов в медицинских ВУЗах – основа для будущего врачевания.....	1535

Научное издание

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ

Тезисы докладов участников Республиканской конференции
с международным участием, посвященной 110-летию
со дня рождения В.А. Бандарина

(Минск, 24 мая 2019 г.)

В двух частях

Часть 2

Под редакцией В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой

Ответственный за выпуск В. В. Хрусталёв
Компьютерная верстка Т. А. Хрусталёва

Подписано в печать 13.05.19. Формат 60×84/16. Бумага офсетная 80 г/м².

Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 9,76. Уч.-изд. л. 9,68. Тираж 13 экз. Заказ 5265.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.

Полиграфическое исполнение: издательско-полиграфическое частное унитарное
предприятие «ДОНАРИТ».

Свидетельство о государственной регистрации изготовителя №1-289 от 17.04.2014.
Ул. Октябрьская, 25, 220030, Минск.



Просто поставьте нам задачу.
Мы обеспечим необходимыми материалами для исследований.

Молекулярная биология

Смеси для ПЦР, рестриктазы, клонирование, секвенирование нового поколения, эпигенетика



Выделение и очистка ДНК, РНК и белков. ТСХ, ВЭЖХ



Цитокины и факторы роста, реагенты для исследования стволовых клеток



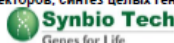
Флуоресцентные индикаторы, апоптоз и жизнеспособность клеток, NO и активные формы кислорода



Реагенты и наборы для секвенирования на генетических анализаторах Applied Biosystems



Конструирование молекулярных векторов, синтез целых генов

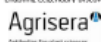


Антитела

Более 500 000 антител, более 350000 цитирований



Проточная цитометрия, неврология, стволовые клетки, онкология



Фитогормоны и среды для растительных клеточных культур



ИФА-наборы



Оборудование для гель-электрофореза, блоттинга, системы гель-документирования, системы гальванизации, ферменты и биореакторы



Тонкая химия

SIGMA-ALDRICH®



Аналитические стандарты



Ваши с 2009 года

НП ООО «Симбиотех»

220077, г Минск, пр-д Ташкентский, 3-8
220037, г. Минск, ул. Филимонова, 15-5
тел.: +375 (17) 309-17-24, 309-17-22
факс: +375 (17) 309-17-21
e-mail: e.kisel@simbiotech.com,
j.luschyk@simbiotech.com,
dmitry.sodel@gmail.com

ISBN 978-985-21-0303-9



9 789852 103039